



HAL
open science

Un oxygénateur microfluidique intégré et compact, à haute efficacité de transfert de gaz

Julie Lachaux

► **To cite this version:**

Julie Lachaux. Un oxygénateur microfluidique intégré et compact, à haute efficacité de transfert de gaz. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. Université Paris-Saclay, 2020. Français. NNT : 2020UPAST063 . tel-03281120

HAL Id: tel-03281120

<https://theses.hal.science/tel-03281120>

Submitted on 8 Jul 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.

Un oxygénateur microfluidique intégré et compact, à haute efficacité de transfert de gaz

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n° 575 electrical, optical bio : physics and engineering
Spécialité de doctorat : Electronique et Optoélectronique, Nano- et
Microtechnologies

Unité de recherche : Université Paris-Saclay, CNRS, Centre de Nanosciences et de
Nanotechnologies, 91120, Palaiseau, France
Réfèrent : Faculté des sciences d'Orsay

Thèse présentée et soutenue à Palaiseau, le 15 décembre
2020, par

Julie LACHAUX

Composition du Jury

Pierre-Yves JOUBERT

Professeur - Université Paris Saclay
C2N (UMR9001), Palaiseau

Président

Benoit CHARLOT

Directeur de Recherche
IES (UMR5214), Montpellier

Rapporteur

Yong CHEN

Directeur de Recherche
ENS (UMR8640), Paris

Rapporteur

Vincent SENEZ

Directeur de Recherche
IEMN (UMR8640), Lille

Examineur

Anne-Marie HAGHIRI

Directeur de Recherche
CNRS (C2N-UMR9001), Palaiseau

Directrice de thèse

Gilgueng Hwang

Chargé de Recherche
CNRS (C2N-UMR9001), Palaiseau

Co-Directeur de thèse

Olaf Mercier

PHPU -Professeur Université Paris Saclay
Hôpital Marie Lannelongue, Le Plessis-Robinson

Invité

Titre : Un oxygénateur microfluidique intégré et compact, à haute efficacité de transfert de gaz

Mots clés : Microfluidique, Microfabrication, Membrane, Echange gazeux, Oxygénation du sang

Résumé : Le poumon est un organe vital dont les pathologies au stade terminal peuvent induire une insuffisance circulatoire avec une défaillance cardiaque droite secondaire. Concernant les options thérapeutiques disponibles, des oxygénateurs sanguins macroscopiques basés sur la technologie des membranes extracorporelles (ECMO) sont actuellement utilisés au sein d'une unité de soins intensifs. Ces oxygénateurs doivent être remplacés en quelques semaines en raison de la coagulation dans le système. Dans ce contexte, le but de mon doctorat était de développer un dispositif microfluidique pour l'oxygénation du sang, qui présente une grande surface d'échange gazeux et capable de soutenir une endothélialisation durable à long terme des microcapillaires sanguins améliorant son hémocompatibilité pour les applications cliniques. Des calculs numériques basés sur le modèle d'échange gazeux de Potkay *et coll.* ont permis de comprendre le rôle de chaque paramètre géométrique sur l'échange

gazeux et, donc, de dimensionner au mieux le système tri-couches « microcapillaire de sang / membrane / microcanal de gaz ».

J'ai ensuite mis au point un protocole de microfabrication qui permet d'intégrer une membrane fine de polymère de très grande surface, et de fabriquer des oxygénateurs robustes et étanches sous pression.

Les performances d'échange gazeux mesurées avec du sang veineux de cochon sont remarquables, tant pour les tri-couches unitaires que pour les structures empilées, avec un faible volume d'injection et une oxygénation élevée (379 ml O₂/min/m²) à débit élevé (15 ml/min). Ces résultats expérimentaux ont pu être comparés aux calculs numériques. Enfin, avec une géométrie optimisée pour minimiser la contrainte de cisaillement, un protocole d'endothélialisation durable dans les capillaires sanguins a été proposé.

Title : A compact integrated microfluidic oxygenator with high gas exchange efficiency

Keywords : microfluidics, microfabrication, membrane, gas transfer, blood oxygenation

Abstract: End-stage lung diseases may result in death either by oxygenation and carbon dioxide exchange insufficiency or by right heart failure. Concerning the therapeutic options currently available, macroscopic blood oxygenators based on extracorporeal membrane (ECMO) technology are currently used. However, the environment of an intensive care unit is still required. Modern oxygenators need to be exchanged within a couple of weeks because of clotting. In this context, the goal of my PhD was the development of a novel microfluidic device for blood oxygenation, which exhibits a large surface area of gas exchange and can support long-term sustainable endothelialization of blood microcapillaries enhancing its hemo-compatibility for clinical applications. Numerical calculations based on the gas exchange model of Potkay *et al.* helped to best size the three-layer

"blood microcapillary / membrane / gas microchannel" system.

I then developed a microfabrication protocol that allows the integration of a thin polymer membrane with a very large surface area, producing robust sealed oxygenators.

The gas exchange performances achieved with venous pig blood are remarkable both for unit trilayers, and for stacked structures with a low reduced injection volume, high oxygenation (379 ml O₂/min/m²) at a flow rate high (15 ml/min). These experimental results could be compared to numerical calculations. Finally, with an optimized geometry minimizing shear stress, a sustainable endothelialization protocol in blood capillaries has been proposed.

Remerciements

Aux membres du jury :

J'ai été honorée de l'intérêt qu'ont porté tous les membres du jury à mes travaux de thèse.

Je remercie sincèrement **M. Benoit Charlot** et **M. Yong Chen** d'avoir accepté de rapporter ce travail de thèse, ainsi que **M. Vincent Senez** et **M. Pierre-Yves Joubert** d'avoir accepté d'examiner ces travaux.

A ma directrice de thèse :

Anne-Marie, merci de m'avoir accueillie dans l'équipe *BIOSYS* depuis mon stage de fin d'étude en 2016. Grâce à toi, j'ai découvert le monde de la recherche scientifique qui m'a énormément plu. Je tiens à te remercier pour ton apport scientifique, ton soutien et ta disponibilité lors de ces travaux de thèse. J'ai également beaucoup apprécié la confiance et l'autonomie que tu m'as accordées. Je tiens particulièrement à te remercier pour ton aide pendant presque toutes les expérimentations d'oxygénation à l'hôpital Marie Lannelongue. Enfin un grand merci pour ton soutien et tes encouragements pendant la conférence *Microtas* qui fût un des grands moments de mes années de thèse. Ce fut une expérience très enrichissante. Je suis très contente de pouvoir travailler encore une année de plus avec toi sur ce beau projet.

A mon co-directeur de thèse :

Gilgueng, je tiens à te remercier pour m'avoir accompagnée et guidée dans tous les défis techniques de ces travaux de thèse. Merci pour ta rigueur scientifique et tes conseils précieux qui m'ont permis d'évoluer, d'aller vers la bonne voie à suivre et d'apprendre toujours plus. Nos discussions ont toujours été une réelle source de plaisir que ce soit sur le plan scientifique ou plus personnel entre nos débats culturels et le récit de tes drôles d'aventures que tu nous partageais en toute sincérité. Enfin j'aimerais te remercier pour ton énergie communicative, ta bienveillance, et ta disponibilité. Même depuis que tu es parti travailler au Japon il y a un an, tu as toujours continué à suivre mon travail et je t'en suis très reconnaissante. J'espère que l'on pourra retravailler un jour ensemble.

A mon co-encadrant de thèse :

Olaf, je tiens à te remercier de m'avoir permis de travailler sur un projet aussi intéressant que *BioArtLung*. Merci d'avoir été à l'écoute des problèmes techniques et d'avoir tout mis en œuvre pour que je puisse réaliser les expérimentations d'oxygénation à l'hôpital Marie Lannelongue. Même si tu n'étais pas toujours là physiquement, il faut le reconnaître ton emploi du temps est plutôt très chargé, tu as toujours répondu à mes questions ou fait en sorte que les bonnes personnes puissent m'aider. Enfin merci pour tes idées, tes encouragements et ta bienveillance. J'ai été honorée de travailler avec toi et je suis très contente que cela continue en 2021.

De manière générale, **Anne-Marie**, **Gilgueng**, **Olaf** je tiens à vous remercier de m'avoir toujours challengée tout au long de cette thèse. J'ai beaucoup appris à vos côtés et je suis très fière aujourd'hui du travail qui a été réalisé.

A l'équipe Biosys (anciens et nouveaux arrivants) :

Je remercie tous les membres de l'équipe Biosys pour leur bienveillance, leur encouragement, leur disponibilité et leur gentillesse. Merci pour toutes les discussions intéressantes que nous avons eu. Ce fut un plaisir de travailler à vos côtés dans une ambiance conviviale. Je remercie particulièrement **Isabelle, Bernard, Jean, Antoine, Emmanuel, Mery** (ma partenaire de conférence), **Alisier, Choayb, Fatima, François-Damien, Marie-Charlotte, Claire, Pedro**.

Aux membres des équipes BioArtLung :

Je tiens à remercier l'équipe du laboratoire de recherche chirurgicale de Marie Lannelongue. Merci **Benoit Decante** pour l'organisation des expérimentations et pour le temps consacré à répondre à mes questions d'ordre médicale. Merci **Frederic et Bruno** pour votre bonne humeur, votre aide et votre disponibilité lors des expérimentations. Sans vous je n'aurais jamais pu obtenir tous ces résultats. Enfin, merci **Pierre Molinié** pour tes conseils sur les expérimentations et pour l'organisation de toutes les réunions *BioArtLung*.

Je tiens à remercier l'équipe de l'*INSERM U1197*. Merci **Georges Uzan et Sina Naserian** pour l'accueil toujours chaleureux dans votre laboratoire et merci de m'avoir transmis toutes ces connaissances sur les cellules endothéliales. Merci **Nassim Arouche** de m'avoir expliqué les principes de la culture cellulaire et d'avoir pris le temps de répondre à mes nombreuses questions. J'ai, grâce à toi, eu l'opportunité d'apprendre énormément sur un domaine qui n'est pas le mien. Enfin merci pour ton humour et ta bonne humeur. C'était un réel plaisir de travailler avec toi.

Je tiens à remercier l'équipe de l'*INSERM U1176*. Merci **Peter Lenting et Cécile Denis** pour vos conseils, et pour m'avoir transmis beaucoup de connaissances sur le sang et particulièrement sur le facteur de Von Willebrand. Merci **Caterina Casari** pour ton aide lors des expérimentations et merci de m'avoir montré le protocole du revêtement albumine/héparine. Merci également pour ta rigueur scientifique et tes remarques toujours pertinentes.

Je tiens à remercier l'équipe du laboratoire de *Ladhyx Polytechnique*. Merci **Abdul Barakat** pour ta bienveillance et tes conseils scientifiques sur l'oxygénateur microfluidique. Merci **Thèvy Lok** pour ton aide et ta bonne humeur. Bon courage pour ta soutenance, nous apercevons le bout du tunnel !

Aux ingénieurs de la centrale du C2N :

Mes remerciements vont à toute l'équipe *PIMENT* sans qui rien n'aurait été possible en salle blanche.

Merci **Dominique Decanini** de m'avoir montré le procédé de l'optool. Merci également de m'avoir toujours conseillée et aidée quand j'en avais besoin. Merci **Christophe Dupuis** pour tout le temps que tu m'as accordé pour me former et pour m'aider à réaliser de belles images sur le *magellan*. Merci également pour ton humour et ta gentillesse, c'était toujours un grand plaisir de discuter et travailler avec toi. Merci **Stéphane Guilet** de m'avoir formée au RIE plasma et d'avoir toujours été disponible pour répondre à mes questions. Je te remercie d'autant plus d'avoir été le meilleur prof de jujitsu du C2N !! Ces moments étaient de véritables moments de décompression, indispensables pendant ma thèse. Enfin merci pour ton énergie et ta bonne humeur communicative.

Merci **David Bouville** pour les formations sur les équipements de la salle PDMS et merci d'avoir toujours été disponible pour m'aider. Enfin je tiens à remercier chaleureusement **Abdelmounaim Harouri**, alias Abdou, pour tout le temps consacré à me former et à m'aider en lithographie optique. Ça a toujours été très agréable de travailler avec toi car tu es passionné et tu aimes partager ton savoir et tes astuces. Sans toi je n'aurais jamais pu réaliser de si beaux moules. Merci également pour ta bonne humeur, et merci de m'avoir montré que l'on pouvait travailler en salle blanche en musique. Enfin dernière chose, fais attention aux palettes du C2N, je risque de t'en piquer d'autres 😊.

En ayant travaillé avec beaucoup d'équipes différentes au cours de cette thèse, il serait difficile de remercier tout le monde. J'adresse ces quelques lignes pour toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ces travaux. Merci pour tout.

A mon entourage :

A mes amis d'enfance, ma seconde famille, ma Tuk Tuk Team, je vous remercie pour tous ces beaux moments partagés. Je vous remercie grandement pour votre soutien et vos encouragements. Vous m'avez permis de décompresser, de relativiser et de me donner l'énergie nécessaire pour continuer. Merci à **Metissa, Maite, Camille, Mélina, Mika, Nico, Leo, Gaby, Ramy, Thomas, Fred, Simon, Paul, Benja, Romain et Vasile**. Un merci tout particulier au Dr. **Camille Baudesson**, pour les nombreux conseils et aides scientifiques toujours très utiles au cours de ma thèse. Un gros merci également pour la relecture, même si je sais que tu adores lire tu n'étais pas obligé et Harry Potter ça reste plus fun. Enfin, une mention particulière pour toi mon petit **Madi**, ton arrivée parmi nous le 1^{er} Juin 2019 fût une réelle source de joie et de bonheur nécessaire pour traverser ces épreuves.

Aux Best Girls de l'ECE 😊, mes meilleures amies d'école avec qui nous avons créé des liens très forts, vous êtes une bouffée d'oxygène. Je vous remercie pour votre soutien et vos encouragements tout au long de ma thèse. Merci de m'avoir fait penser à autre chose le temps d'un week-end à la campagne, d'une soirée jeux de société, d'un brunch ou encore d'un bon repas. Vous me manquez. Merci à **Leila, Nancy, Chabha, Khadija, Sophie et Emma**.

A mes parents, **Claude et Hugues** pour leur amour et leur soutien inconditionnels. Merci de m'avoir toujours encouragée à aller plus loin. A mon frère, **Maxime** et mes deux sœurs **Stéphanie et Louise**, merci pour votre soutien et vos encouragements sans fails. Vous m'avez donné le courage d'aller au bout de cette thèse. A mes oncles et tantes, mes deux cousins **Thomas et Alexis** et ma cousine **Caroline** merci pour vos encouragements qui me sont toujours aller droit au cœur. A ma grand-mère, **Mamoune**, qui m'a transmis sa force et qui je l'espère serait fière de moi.

Enfin à l'homme qui partage ma vie depuis bientôt 4 ans, **Guillaume**, merci pour ton soutien inestimable. Merci de m'avoir supportée et d'avoir toujours été là dans les bons comme dans les moments plus compliqués. Merci pour ton humour, ton honnêteté et pour tous tes conseils (mention spéciale pour la relecture). J'espère que nous continuerons d'être heureux ensemble encore très longtemps.

Liste des abréviations

AAMI	Association for the advancement of medical instrumentation
ECFCs	Endothelial colony forming cells
ECMO	Extracorporeal membrane oxygenation
ELSO	Extracorporeal life support organization
MEB	Microscopie électronique à balayage
MFCSTM	Contrôleur de pression microfluidique Fluigent
MNC	Cellules mononucléaires
PBS	Phosphate buffered saline
PC	Polycarbonate
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PE	Polyéthylène
PEG	Polyéthylène glycol
PMMA	Polyméthylméthacrylate
PMP	Polyméthylpentène
PP	Polypropylène
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
PVC	Polychlorure de vinyle
Re	Nombre de Reynolds
RIE	Reactive ion etching
SDRA	Syndrome de détresse respiratoire aigue
SDR	Syndrome de détresse respiratoire
TVI	Tronc veineux innominé
UV	Ultraviolet

Table des matières

Remerciements	3
Liste des abréviations	6
Table des matières	7
Chapitre 1 – Introduction	10
I – La fonction physiologique du poumon	11
II – L’oxygénation par membrane extracorporelle	13
II.1 – Contexte	13
II.2 – Principe de fonctionnement des dispositifs ECMO	14
III – Les oxygénateurs microfluidiques	17
III.1 – Apport de la microfluidique.....	17
III.2 - Etat de l’art des oxygénateurs microfluidiques.....	18
III.2.1 – Les premiers oxygénateurs microfluidiques avec des dimensions biomimétiques	20
III.2.2 – Les premières études d’hémocompatibilité	22
III.2.3 – Les premiers dispositifs empilés hémocompatibles.....	23
III.2.4 – Les dispositifs empilés à haut débit sanguin	28
III.2.5 – Conclusion	36
IV – But de cette thèse	39
Références bibliographiques du Chapitre 1	41
Chapitre 2 – Calculs théoriques	44
I – La géométrie du dispositif	45
I.1 – Modèle I.....	46
I.2 – Modèle II.....	47
I.3 – Modèle III.....	49
I.4 – Modèle IV	50
II – Lois d’écoulement microfluidique	51
II.1 – Propriétés rhéologiques du sang.....	51
II.2 – Lois d’écoulement de flux dans des microcanaux fluidiques	53
II.3 – Estimation de la chute de pression	55
II.3.1 – Résistance fluidique et chute de pression dans un microcanal rectangulaire	55
II.3.2 – Les conditions imposées par le corps humain.....	56
II.3.3 – Calculs numériques de la chute de pression	58
III – L’échange de gaz dans un oxygénateur microfluidique	63

III.1 – La physique d’échange de gaz à travers une membrane perméable sous flux sanguin	63
III.1.1 – La diffusion à travers la membrane.....	64
III.1.2 – La diffusion à travers la couche limite de sang.....	66
III.1.3 – Les paramètres qui influencent l’échange de gaz dans le dispositif	66
III.2 – Le choix du matériau de la membrane perméable aux gaz.....	67
III.3 – Le modèle mathématique proposé par Potkay	69
III.3.1 – Les hypothèses du modèle	70
III.3.2 – Le taux de transfert d’oxygène.....	72
III.3.3 – Le taux de transfert de dioxyde de carbone.....	73
III.3.4 – Les paramètres à déterminer pour résoudre les équations de Potkay	75
III.3.5 – La dérivation mathématique de Potkay	81
IV – Résultats des calculs numériques	85
Références bibliographiques du Chapitre 2	95
Chapitre 3 - Procédés de fabrication des dispositifs.....	99
I – Protocole de fabrication des modules microstructurés et de la fine membrane de PDMS	100
I.1 – Le développement des moules en photolithographie	100
I.2 – L’élaboration des modules de PDMS microstructurés	107
I.3 – La réalisation d’une membrane fine de PDMS.....	109
I.3.1 – Traitement anti-adhésif des substrats.....	109
I.3.2 – Calibration de l’épaisseur de la membrane.....	109
II – Fabrication du dispositif tri-couches de grande surface.....	111
II.1 – Etat de l’art du collage irréversible PDMS/PDMS.....	111
II.2 – Optimisation du collage humide d’une fine couche adhésive de PDMS non recuite par dilution dans de l’hexane.....	113
II.3 – Intégration de la membrane entre les modules de PDMS par collage humide PDMS/hexane	115
II.4 – Mise en place des connectiques fluidiques.....	118
III – Assemblage de plusieurs structures tri-couches en parallèle	124
III.1 – Description des structures empilées	124
III.2 – Procédé d’empilement de plusieurs dispositifs tri-couches	125
IV – Evaluation fluidique du dispositif	128
IV.1 – Dispositif test : vérification du passage de microbilles simulant des globules rouges dans des microcanaux	128
IV.2 – Dispositifs tests : comparaison du collage plasma oxygène classique et du collage humide PDMS/hexane.....	129
IV.3 – Dispositifs 4 pouces à tri-couches unique scellés par collage humide PDMS/hexane.....	132

Références bibliographiques du Chapitre 3	134
Chapitre 4 – Performances de l’oxygénateur microfluidique : méthodes et mesures	136
I – Les premières mesures : détermination des paramètres les plus influents.....	137
I.1 – Protocoles :	137
I.1.1 – Prélèvement du sang veineux de cochon (1 ^{er} protocole).....	137
I.1.2 – Banc expérimental et protocole des mesures	139
I.2 – Capacité d’oxygénation et de retrait du CO ₂ d’une structure tri-couches 4 pouces (modèles II, III et IV)	140
I.2.1 – Rôle de la présence d’un revêtement (albumine/héparine) dans les capillaires sanguins	141
I.2.2 – Rôle de la hauteur <i>H</i> des microcanaux.....	144
I.2.3 – Rôle du pourcentage d’oxygène dans le gaz d’oxygénation	146
I.2.4 – Rôle de la surface d’échange	148
I.2.5 – Conclusion	150
II – Les mesures optimales d’un dispositif tri-couches optimisé (modèle III).....	152
II.1 – Nouveau protocole de prélèvement du sang veineux de cochon (2 nd protocole)	152
II.2 – La capacité maximale d’oxygénation et de retrait du CO ₂ d’une structure tri-couches de géométrie optimale modèle III.....	153
II.2.1 – Rôle de la hauteur des microcanaux	153
II.2.2 – Comparaison des résultats simulés et expérimentaux.....	157
II.2.3 – Comparaison avec d’autres études	161
II.3 – Un dispositif à 3 structures tri-couches empilées	164
III – Endothélialisation des capillaires sanguins.....	167
IV – Conclusion et perspectives	170
Références bibliographiques du Chapitre 4	173
Annexes.....	176
Table des illustrations	196
Publications.....	207

Chapitre 1 – Introduction

Ce chapitre permet d'introduire le contexte général de mon travail de thèse.

Dans une première partie, la fonction physiologique du poumon est rappelée brièvement. Nous décrivons ensuite l'oxygénation par membrane extracorporelle, communément appelée ECMO (l'acronyme anglais de ExtraCorporeal Membrane Oxygenation), qui est une méthode de maintien en vie dans les formes les plus sévères du syndrome de détresse respiratoire aigüe (SDRA). Cette méthode permet l'oxygénation (apport d'oxygène) et le retrait du dioxyde de carbone du sang, non plus à travers le poumon physiologique, mais à travers une membrane extracorporelle. Après avoir expliqué la nécessité clinique de l'échange de gaz extracorporel, nous décrivons succinctement le principe de fonctionnement des dispositifs cliniques actuels type ECMO.

Dans une deuxième partie de ce chapitre, nous rappelons comment est apparue historiquement la microfluidique dans l'oxygénation par membrane extracorporelle. Ces dispositifs sont communément appelés « oxygénateurs microfluidiques » et sont à l'étude depuis une dizaine d'années. La suite du chapitre présente l'état de l'art, en termes de conception et de performances techniques, des oxygénateurs microfluidiques développés par d'autres groupes dans le monde, avant et pendant ma thèse.

Enfin ce chapitre s'achève avec la description des objectifs principaux de cette thèse.

I – La fonction physiologique du poumon

Le poumon naturel a pour principale fonction d'assurer les échanges gazeux (oxygène et dioxyde de carbone) entre l'air et le sang. Il fournit de l'oxygène au sang, qui le transporte ensuite vers chaque cellule du corps et évacue le dioxyde de carbone produit par les cellules. L'échange gazeux se produit entre les millions d'alvéoles pulmonaires et les capillaires qui les enveloppent. Comme illustré dans la figure 1.1, l'oxygène passe dans le sang au travers la paroi des alvéoles pulmonaires pour se diffuser dans les capillaires sanguins. À l'inverse, le dioxyde de carbone passe des capillaires sanguins vers les alvéoles pulmonaires d'où il sera retiré. Les échanges gazeux se font par une diffusion passive selon un gradient de pression partielle entre le sang et l'air alvéolaire [1]. Dans le corps humain, les valeurs théoriques des pressions partielles en oxygène (PO_2) et en dioxyde de carbone (PCO_2), ainsi que la saturation en oxygène ($SatO_2$) du sang pauvre en oxygène, appelé « sang veineux » (avant son passage dans les poumons) et du sang riche en oxygène, appelé « sang artériel » (après son passage dans les poumons) sont indiqués dans le tableau 1.1 [1]. Par définition, la saturation en oxygène ($SatO_2$) correspond au taux d'oxygène contenu dans les globules rouges. Plus simplement elle représente la quantité d'hémoglobine oxygénée dans le sang. L'hémoglobine est une protéine renfermant du fer, contenue dans les globules rouges et qui véhicule l'oxygène dans le sang.

La surface totale de la membrane alvéolo-capillaire est d'environ 70 m^2 , pour une épaisseur d'environ $1\text{ }\mu\text{m}$ (pour un être humain adulte) [1]. D'autre part, la quantité totale de sang dans les capillaires sanguins à un instant donné est comprise entre 60 à 140 millilitres [1]. En imaginant cette petite quantité de sang sur une surface aussi grande que 70 m^2 , nous pouvons comprendre la rapidité de l'échange de gaz dans le corps humain. Le rapport surface sur volume est de plus de 5000 cm^{-1} . A noter que le diamètre moyen des capillaires sanguins est $5\text{ }\mu\text{m}$ [1].

Un être humain adulte consomme au repos environ 250 ml/min d'oxygène et relargue environ 200 ml/min de dioxyde de carbone [1,3]. Sous un effort physique intense, le système respiratoire humain est en mesure de garantir un apport en oxygène et une élimination du dioxyde de carbone allant jusqu'à 3000 ml/min [2]. Les nouveau-nés, quant à eux, ont besoin en moyenne de 6 à 8 ml/min d'oxygène par kilogramme de poids de corps [4].

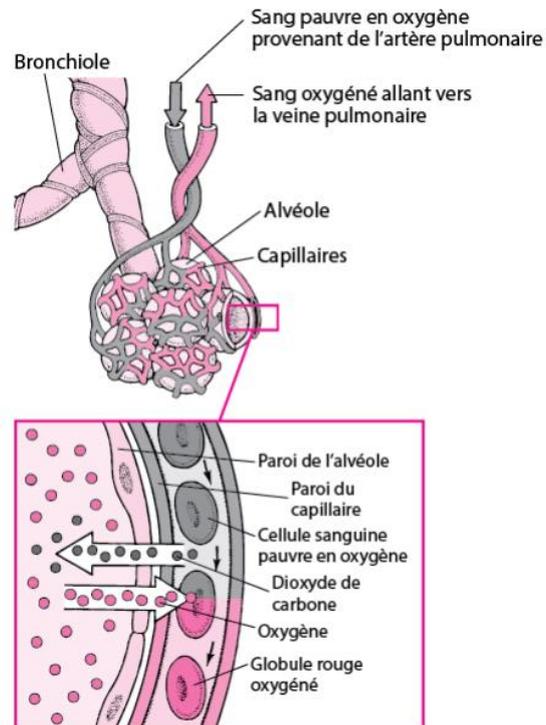


Figure 1.1. Schéma représentant l'échange gazeux entre les alvéoles pulmonaires et les capillaires sanguins [34].

	Sang veineux	Sang artériel
PO₂ (mmHg)	40	100
PCO₂ (mmHg)	46	40
SatO₂ (%)	75	100

Tableau 1.1. Valeurs théoriques dans le corps humain des pressions partielles en oxygène (PO₂) et en dioxyde de carbone (PCO₂), ainsi que la saturation en oxygène (SatO₂) du sang veineux et du sang artériel [1].

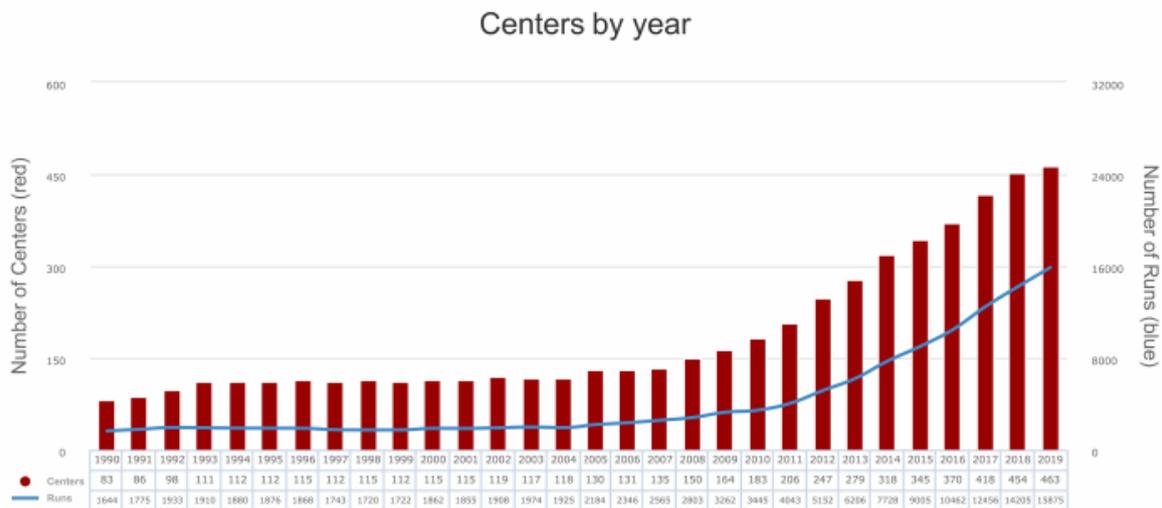
II – L’oxygénation par membrane extracorporelle

II.1 – Contexte

Les pathologies respiratoires graves au stade terminal, comme le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA), peuvent induire une insuffisance de transfert d’oxygène et de dioxyde de carbone. Il peut alors devenir vital de soutenir l’échange de gaz du patient en attendant une transplantation pulmonaire. Le traitement classique du SDRA est la ventilation mécanique qui permet de maintenir l’échange gazeux entre le poumon et le sang en utilisant le tissu alvéolaire naturel comme membrane de diffusion. Bien que salvatrice, cette méthode est elle-même pourvoyeuse de lésions pulmonaires comme le barotraumatisme ou le volotraumatisme [5]. Le barotraumatisme est la rupture de la paroi alvéolaire qui engendre une fuite d’air responsable d’un pneumothorax. Le volotraumatisme résulte de la surdistension alvéolaire dû à des forces de pression importantes. Un autre inconvénient est, qu’en raison du processus inflammatoire dû au SDRA, la perméabilité aux gaz du tissu alvéolaire diminue. Ainsi, une pression ou un volume de ventilation encore plus élevés sont nécessaires, augmentant ainsi les risques de lésions pulmonaires. Par conséquent, il peut être essentiel de réaliser l’échange de gaz sur un dispositif indépendant du poumon naturel déjà malade. Le poumon naturel serait alors soulagé et les chances de récupération améliorées.

Dans les années 1970, ont commencé à apparaître des techniques d’oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone par membrane extracorporelle nommées ECMO (ExtraCorporeal Membrane Oxygenation). Le principe de l’ECMO est de récupérer le sang veineux (non oxygéné) *via* une canule d’admission insérée dans le corps du patient. Le sang est guidé, grâce à une pompe centrifuge, à travers un oxygénateur où s’effectue l’échange de gaz. Cet échange de gaz entre le sang et le compartiment du gaz d’oxygénation se fait par diffusion selon un gradient de pression partielle *via* une membrane de diffusion séparant le sang et le gaz d’oxygénation. Le sang oxygéné est ensuite redirigé dans le corps du patient. Pour augmenter la différence de pression partielle, le gaz d’oxygénation doit contenir une concentration importante d’oxygène et une concentration minimale de dioxyde de carbone afin de maximiser l’échange de gaz. Dans un premier temps, ces techniques lourdes n’ont pas montré de bénéfice dans la survie des patients. A partir du milieu des années 2000, grâce à l’évolution technologique et à l’amélioration de l’expérience des équipes médicales, cette technique a connu un regain d’intérêt dans la prise en charge des patients atteints du SDRA. La pandémie de grippe A H1N1 de 2009 a remis sur le devant de la scène cette technique qui restait encore peu utilisée. De nombreux patients atteints du SDRA ont été traités au niveau mondial, rapportant des taux de survie allant de 50 à 70% [5-8]. Plus récemment encore, l’atteinte respiratoire liée à la covid-19 a conduit à la mise en œuvre d’ECMO. Une étude récente menée à l’hôpital de la Pitié-Salpêtrière montre l’intérêt de l’oxygénation par membrane extracorporelle dans le traitement du SDRA lié à la covid-19 [9].

La mise en place de l’ECMO a pris plus d’ampleur en particulier dans cette dernière décennie. De plus, les progrès biotechnologiques ont permis, en limitant la morbi-mortalité, l’essor de ce mode d’assistance (voir figure 1.2). En 2020, l’organisation ELSO (Extracorporeal Life Support Organization) a enregistré 133,371 cas pour lequel une oxygénation par membrane extracorporelle a été utilisée, avec un taux de survie moyen de 55% [10].



Tuesday, July 21, 2020

(c) 2020 Extracorporeal Life Support Organization

Figure 1.2. Nombre d'ECMO en fonction des années, d'après le registre de l'ELSO (Extracorporeal Life Support Organization) de 2020 [10].

II.2 – Principe de fonctionnement des dispositifs ECMO

L'ECMO est une technique d'assistance qui a pour but de pallier temporairement aux insuffisances respiratoires. En aucun cas elle ne s'avère être une technique pérenne (de quelques jours à 2 à 3 semaines tout au plus). C'est une technique de secours en attendant la récupération fonctionnelle des poumons ou dans l'attente d'une greffe pulmonaire [2,7]. Comme illustrée sur la figure 1.3 (a), la plupart des dispositifs ECMO actuels sont composés de deux canules (une canule d'aspiration et une canule de réinjection), d'une pompe centrifuge, d'un oxygénateur et d'une console de contrôle.

L'oxygénateur est relié à un mélangeur air/oxygène permettant de régler les débits et la concentration d'oxygène du gaz d'oxygénation selon les besoins du patient (généralement de l'oxygène pur est utilisé). Il peut également être muni d'un échangeur thermique pour réchauffer ou refroidir le sang. Les oxygénateurs actuellement commercialisés sont composés de fibres creuses en polypropylène (PP) microporeux ou en polyméthylpentène (PMP) dense reproduisant la fonction de la membrane alvéolaire. Le sang circule à l'extérieur de chaque fibre creuse tandis que le gaz d'oxygénation circule à l'intérieur de ces fibres creuses (figure 1.3 (c)). Cette configuration présente plusieurs avantages comme une capacité à mélanger le sang, ce qui limite le phénomène de couche limite et donc améliore l'échange de gaz. L'inconvénient principal est que cela augmente l'uniformité du flux sanguin et donc accentue le risque de coagulation du sang [12]. Ce phénomène et ses conséquences sur l'échange de gaz dans un dispositif extracorporel seront décrits plus loin dans cette section.

Les oxygénateurs cliniques actuels réalisent un échange de gaz très performant, permettant une saturation en oxygène ($SatO_2$) en sortie du dispositif d'au moins 95%. La surface de la membrane est comprise entre 1 et 3 m² et le volume sanguin d'amorçage est compris entre 175 et de 275 ml. Le rapport surface sur volume est d'environ 80 cm⁻¹. Le flux sanguin peut aller jusqu'à 7 l/min et le taux

de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone est généralement compris entre 200 et 400 ml/min [2,6,13]. Les principales caractéristiques de deux oxygénateurs de pointe sont résumées dans le tableau 1.2. Concernant le dispositif ECMO Quadrox-i Adult (figure 1.3 (b)), le tableau 1.3 rapporte les taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone maximal du dispositif ainsi que leurs valeurs normalisées à la surface d'échange. Par définition, le taux de transfert de gaz dans un oxygénateur correspond à la différence de concentration du gaz (oxygène ou dioxyde de carbone) dans le sang entre l'entrée et la sortie du dispositif en un temps donné. Une description détaillée du taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone sera donnée partie III.3.2 et III.3.3 du chapitre 2.

Dans le corps humain au repos, le taux de transfert de gaz est d'environ 250 ml O₂/min pour l'oxygène et d'environ 200 ml CO₂/min pour le dioxyde de carbone.

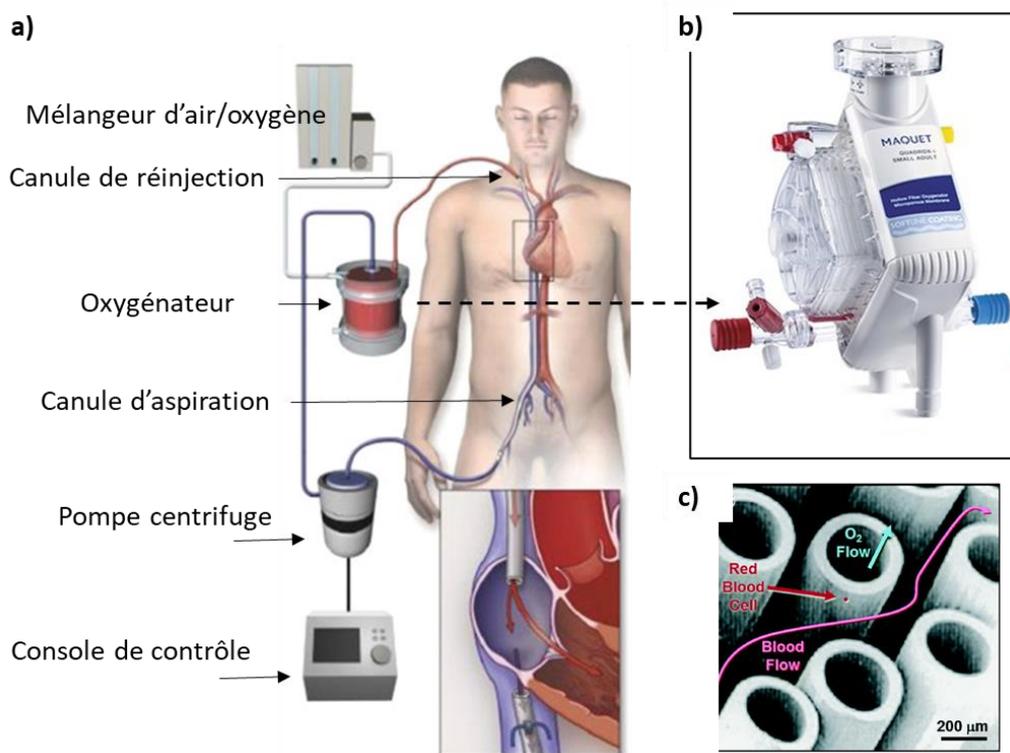


Figure 1.3. (a) Schéma d'un dispositif ECMO connecté au corps humain, d'après Brodie D. et coll. [11]. Il faut mentionner qu'il peut y avoir différentes configurations pour la connexion des canules sur les vaisseaux humains. Sur le schéma ci-dessus, on parle de canulation fémoro-jugulaire ; (b) une photo du système ECMO Quadrox-i Adult [13] et (c) une vue microscopique du réseau de fibres en PMP où l'on peut voir la circulation du gaz d'oxygénation (flèche bleu) et la circulation du sang (flèche rouge) [12].

	Débit sanguin (l/min)	Volume sanguin d'amorçage (ml)	Surface de la membrane (m ²)	Matériau de la membrane
Quadrox-i Adult [13]	0,5 – 7	250	1,8	Polypropylène (PP) microporeux
iLA membrane ventilator [14,15]	0,5 – 4,5	240	1,3	Polyméthylpentène (PMP)

Tableau 1.2. Principales caractéristiques de deux oxygénateurs ECMO de pointe.

Quadrox-i Adult [13]			
Taux de transfert d'O ₂ maximal (ml O ₂ /min)	Taux de transfert d'O ₂ normalisé à la surface d'échange (ml O ₂ /min/m ²)	Taux de transfert de CO ₂ maximal (ml CO ₂ /min)	Taux de transfert de CO ₂ normalisé à la surface d'échange (ml CO ₂ /min/m ²)
430	238	450	250

Tableau 1.3. Taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone maximal du dispositif ECMO Quadrox-i Adult [13] ainsi que leurs valeurs normalisées à la surface d'échange (1,8 m²).

Les complications liées à l'implantation d'un système ECMO sont multiples et souvent graves. Elles augmentent considérablement la morbi-mortalité des patients et sont à prendre en compte avant toute implantation. Tout d'abord, la formation dans le circuit de caillots sanguins, appelés aussi thrombus, peut survenir malgré un traitement anti-coagulant efficace. Ces caillots sanguins correspondent au produit final de la coagulation sanguine, formant une masse semi-solide et visqueuse composée principalement d'une protéine, la fibrine [1]. En situation normale dans le corps humain, les thrombus servent à colmater les brèches dans les vaisseaux sanguins à la suite de lésions, de manière à stopper l'hémorragie. Dans un dispositif extracorporel, ces réactions peuvent se produire pour plusieurs raisons, notamment si le sang est en contact avec une surface artificielle non hémocompatible, si le flux sanguin est non-uniforme, ou si la chute de pression ou la contrainte de cisaillement sont trop élevées [12]. Les oxygénateurs actuels doivent être changés au bout de deux ou trois semaines à cause du phénomène de coagulation. En effet, l'introduction des caillots sanguins dans le corps du patient peut avoir de lourdes conséquences sur sa santé. De plus l'efficacité d'échange de gaz du dispositif contenant beaucoup de thrombus est réduite. D'autre part, les complications les plus fréquentes sont les hémorragies qui surviennent dans 30 à 60 % des cas [6,7] et qui sont la principale cause de morbi-mortalité de l'ECMO. Plusieurs facteurs peuvent expliquer leurs survenues bien que la plupart des complications hémorragiques sont liées à l'utilisation de traitement anti-coagulant. Les infections sont également une autre complication fréquente sous ECMO.

Enfin il est important de mentionner que l'ensemble des interfaces connectées (pompe centrifuge, oxygénateurs, mélangeur de gaz etc...) est un système complexe, sensible et encombrant. Il ne permet pas de réduire la charge de travail des hôpitaux et contraint le patient à rester allongé dans un service de réanimation pendant toute la durée du traitement.

III – Les oxygénateurs microfluidiques

III.1 – Apport de la microfluidique

Un dispositif microfluidique extracorporel pour l'échange de gaz, appelé aussi « oxygénateur microfluidique », est un appareil dans lequel certaines dimensions sont à l'échelle micrométrique, notamment la hauteur des microcanaux sanguins et l'épaisseur de la membrane qui sont comprises entre 1 et 150 μm . Cette configuration présente de nombreux avantages en termes d'échange de gaz, de portabilité et de biocompatibilité, comme décrit ci-dessous.

- 1) Une capacité élevée d'échange de gaz : les faibles dimensions pour la hauteur des microcanaux sanguins et l'épaisseur de la membrane réduisent considérablement les distances de diffusion pour le transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone entre le sang et le gaz d'oxygénation. La réduction de ces distances de diffusion augmente l'efficacité de l'échange de gaz.
- 2) Un faible volume sanguin d'amorçage : le volume sanguin d'amorçage correspond à la quantité de sang nécessaire pour remplir un oxygénateur et son circuit d'entrée et de sortie. Il s'agit donc du volume sanguin qui est exposé à une surface artificielle à un moment donné. Il a été démontré que la réduction du volume sanguin d'amorçage au cours des procédures de pontage cardiopulmonaire réduit les transfusions sanguines post-opératoires, avance la récupération hémodynamique du patient, et augmente les valeurs de l'hématocrite (*Hct*) pendant l'intervention [12]. Par définition, l'*Hct* est le pourcentage du volume des globules rouges par rapport au volume sanguin total. Les oxygénateurs cliniques du type ECMO pour adulte ont des volumes d'amorçage d'environ 250 ml. Les oxygénateurs microfluidiques, grâce à leurs dimensions micrométriques et aux rapports élevés de surface sur volume, ont l'avantage d'améliorer l'efficacité d'échange de gaz. Ces microsystèmes permettent donc de réduire le volume sanguin d'amorçage pour un taux d'échange de gaz donné, améliorant ainsi potentiellement les résultats pour le patient tout en réduisant également la taille finale du dispositif.
- 3) Un réseau sanguin biomimétique : les oxygénateurs cliniques actuels du type ECMO consistent en des centaines, voire des milliers de tubes de fibres creuses serrés les uns contre les autres. Le sang circule entre les fibres dans un chemin tortueux qui améliore le mélange et donc l'échange de gaz. Cependant, le flux n'est pas uniforme, ce qui induit des zones à hauts débits sanguins et des zones de stagnation du sang. Les zones de hauts débits sanguins (avec une contrainte de cisaillement élevée) et les zones de stagnation peuvent, toutes les deux, activer les plaquettes sanguines et aboutir à une coagulation du sang [12]. Par opposition, basé sur des techniques de microfabrication, le réseau de microcanaux sanguins des oxygénateurs microfluidiques peut être conçu avec une géométrie choisie. Il est donc possible de créer artificiellement des géométries qui respectent les lois naturelles des vaisseaux sanguins [16] en uniformisant le flux afin de réduire la contrainte de cisaillement. Cette approche pourrait donc améliorer la biocompatibilité et la durée de vie des dispositifs.

- 4) Une réduction des fuites d'air et de plasma : les oxygénateurs cliniques actuels sont composés de membranes à fibre creuse soit en polypropylène (PP) poreuse, soit en polyméthylpentène (PMP) dense. Les fibres creuses en PP poreuse sont hautement perméables à l'oxygène et au dioxyde de carbone en raison de leur microporosité. L'inconvénient est que cette porosité peut entraîner des fuites d'air ou de plasma à travers la membrane. Dans les dispositifs à fibre creuse en PMP dense, il n'a pas de fuite de plasma mais des fuites d'air à travers la membrane peuvent survenir [12,17]. C'est un réel danger potentiel pour le patient qui peut aussi entraîner une dégradation de la capacité d'échange de gaz [12,17]. Par opposition, les techniques de microfabrication permettent de fabriquer des membranes en polymère dense, très minces et très perméables aux gaz. Ces membranes permettent d'obtenir une très bonne capacité d'échange de gaz et d'éviter les inconvénients des membranes à fibre creuse, notamment les fuites d'air et de plasma à travers la membrane.

Malgré ces nombreux avantages, il faut toutefois mentionner certains inconvénients potentiels de la microfluidique. Comme expliqué plus haut, il faut savoir qu'il peut y avoir aussi une formation de caillots sanguins (thrombus) au sein des dispositifs extracorporels. Pour les oxygénateurs microfluidiques, il faut aussi réduire la formation de ces caillots sanguins qui pourraient rapidement bloquer les microcanaux du fait de leur petite dimension, et par conséquent réduire la capacité d'échange de gaz et la durée de vie de l'appareil. Il est donc important de réaliser des géométries appropriées, d'ajouter un revêtement hémocompatible et de réduire la chute de pression et la contrainte de cisaillement afin de minimiser le phénomène de coagulation. D'autre part, du fait des petites dimensions des microcanaux, il est compliqué de traiter des hauts débits sanguins. Il est donc nécessaire de développer une architecture d'oxygénateur microfluidique qui permettent l'intégration de centaines, voire de milliers, de microcanaux adressables en parallèle.

III.2 - Etat de l'art des oxygénateurs microfluidiques

Au cours des dix dernières années, plusieurs groupes de recherche se sont penchés sur la réalisation d'oxygénateurs microfluidiques performants en augmentant le rapport surface sur volume du flux sanguin dans le but d'accroître les échanges de gaz. Les oxygénateurs microfluidiques sont majoritairement conçus comme une structure tri-couches composée de deux modules microstructurés séparés par une fine membrane de diffusion, avec un module de sang où circule le sang pauvre en oxygène et un module de gaz où circule le gaz d'oxygénation. L'échange de gaz se fait par diffusion selon un gradient de pression partielle entre le sang et le gaz d'oxygénation. Lors du processus d'échange de gaz, l'oxygène du gaz d'oxygénation se diffuse à travers la membrane pour venir « oxygéner » le sang. Dans le même temps, le processus est inversé pour le dioxyde de carbone, celui-ci diffuse à travers la membrane du sang vers le module de gaz où il est évacué par le flux du gaz d'oxygénation.

Les premiers oxygénateurs microfluidiques proposés [18-20] sont basés sur une structure tri-couches où les microcanaux du module sang présentent des dimensions comparables à celles des capillaires des poumons humains. Malgré une bonne capacité d'échange de gaz, ces dispositifs ne permettent pas de traiter de hauts débits sanguins du fait de la petite dimension des microcanaux. Ils sont en général limités au traitement de quelques millilitres par minute de sang. Dans ces premiers oxygénateurs miniaturisés, le taux de transfert de gaz est donc très faible.

Pour une application clinique, le débit sanguin minimum est de 1 litre par minute et pour ce débit sanguin, le taux de transfert de gaz minimum requis est de 45 ml O₂/min pour l'oxygène et de 38 ml CO₂/min pour le dioxyde de carbone [22].

Plus récemment, de nouvelles géométries d'oxygénateur microfluidique [23-26] ont été proposées avec des microcanaux non biomimétiques de plus grande dimension ainsi qu'une surface d'échange plus importante pour augmenter simultanément le débit sanguin et le taux de transfert de gaz. Nous verrons plus loin que ces nouvelles géométries permettent aussi d'abaisser la chute de pression.

Pour obtenir un bon échange de gaz tout en traitant un débit sanguin élevé, il est donc nécessaire de trouver un bon compromis dans le dimensionnement des microcanaux tout en maximisant la surface d'échange et en réduisant la chute de pression entre l'entrée et la sortie du réseau de sang. Pour réaliser un oxygénateur microfluidique répondant aux exigences cliniques, il est recommandé que la chute de pression se rapproche le plus possible des valeurs physiologiques, c'est-à-dire qu'elle soit comprise entre 10 et 100 mmHg. De même, la contrainte de cisaillement devrait être comprise entre 10 et 70 dyn/cm² [12,27]. Enfin, la distribution d'un flux uniforme et la présence d'un revêtement hémocompatible dans les microcanaux sanguins devraient permettre de minimiser les dommages sanguins et les réponses inflammatoires, augmentant ainsi la durée de vie du dispositif.

III.2.1 – Les premiers oxygénateurs microfluidiques avec des dimensions biomimétiques

En 2011, Potkay *et coll.* [18] présente un oxygénateur microfluidique biomimétique à petite échelle, conçu pour optimiser les échanges de gaz en utilisant de l'air comme gaz d'oxygénation. Le dispositif basé sur une structure tri-couche, comporte un module de sang et un module de gaz, séparés par une fine membrane de diffusion d'une épaisseur de 15 μm . Le module de sang est composé d'un réseau de microcanaux tandis que le module de gaz est une grande chambre ouverte soutenue par des piliers circulaires.

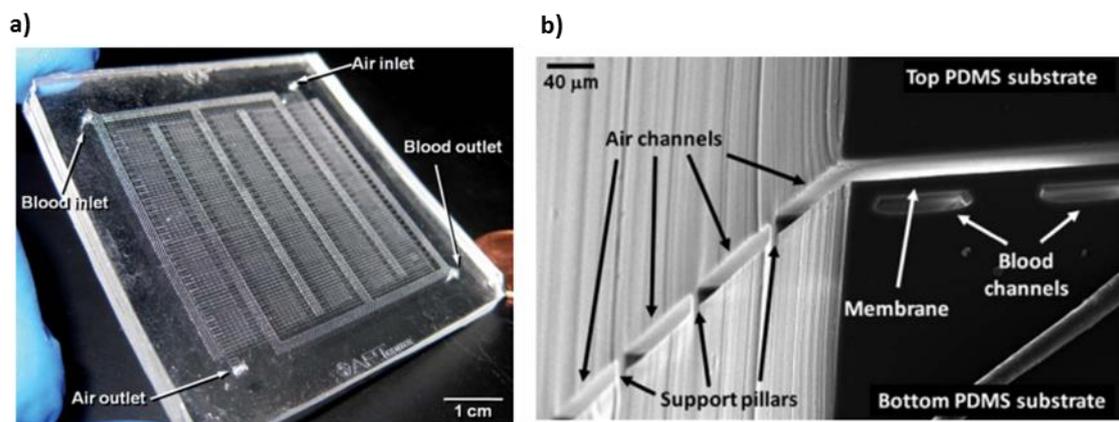


Figure 1.4. (a) une vue générale du dessus de l'oxygénateur microfluidique à petite échelle montrant les entrées et les sorties du sang et de l'air, et (b) une image réalisée au MEB d'une coupe transversale du dispositif. L'image montre une vue en 3 dimensions de la structure tri-couche composée des microcanaux du module de sang (d'une hauteur de 20 μm) et de la chambre ouverte du module de gaz, séparés par une membrane de diffusion de 15 μm . [18].

La figure 1.4 présente une vue générale de dessus du dispositif (figure 1.4 (a)) et une image en coupe obtenue par microscopie électronique à balayage (MEB) montrant la composition de la structure tri-couche (figure 1.4 (b)). Tout le dispositif est réalisé en polydiméthylsiloxane (PDMS). Ce polymère siliconé est notamment connu pour avoir une très haute perméabilité aux gaz, ce qui en fait un avantage de choix pour la membrane de diffusion. Les deux modules du sang et du gaz sont fixés des deux côtés de la membrane par activation d'un plasma d'oxygène (ce type de collage sera détaillée partie II du chapitre 4).

Les microcanaux du module de sang (que nous appelons aussi capillaires sanguins ou microcanaux sanguin) ont une hauteur dégressive de 140 μm , 60 μm et enfin 10 ou 20 μm pour simuler la ramification du poumon naturel. Les plus petits microcanaux d'une hauteur de 10 ou 20 μm se rapprochent de la taille des capillaires sanguins naturels où a lieu la plus grande partie de l'échange de gaz. La surface d'échange des dispositifs est respectivement de 2,34 cm^2 et 1,67 cm^2 pour les hauteurs de capillaires de 20 et 10 μm . La capacité d'échange de gaz du dispositif a été testée en faisant circuler du sang de cochon veineux dans les microcanaux du module de sang à différents débits sanguins compris entre 0,3 et 1,6 ml/min. En même temps, de l'air est envoyé dans les compartiments de gaz. Une analyse des gaz du sang est réalisée en amont et en sortie du dispositif pour chaque débit sanguin.

Pour un débit sanguin de 1,6 ml/min et une hauteur de capillaire de 10 μm , le **taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone obtenu est respectivement de 0,036 ml O₂/min et de 0,08 ml CO₂/min. Avec une surface d'échange de 1,67 cm², cela équivaut à un taux de transfert de gaz normalisé à la surface d'échange de 215 ml O₂/min/m² pour l'oxygène et de 479 ml CO₂/min/m² pour le dioxyde de carbone. Si l'on compare ces résultats avec les valeurs du système cliniques ECMO « Maquet Quadrox-i adult » (voir tableau 1.3), on observe que le taux de transfert d'oxygène rapporté à la surface d'échange n'est pas loin du dispositif clinique qui utilise de l'oxygène pure comme gaz d'oxygénation, et que le taux de transfert de dioxyde de carbone normalisé à la surface d'échange est largement supérieur au dispositif clinique.** Toutefois le débit sanguin, ici, est très faible et non adapté pour une application clinique. L'utilisation de l'air comme gaz d'oxygénation par rapport à l'oxygène pure est aussi une avancée à terme, car cela éliminera l'utilisation de bouteilles d'oxygène sous pression qui est un obstacle majeur à la création d'oxygénateur microfluidique réellement portatif. Ces premiers dispositifs ont permis de valider la technologie tri-couches avec une membrane perméable aux gaz intégrée en démontrant l'obtention d'un taux de transfert de gaz prometteur grâce à des hauteurs de capillaires biomimétiques ($H \leq 20 \mu\text{m}$).

Toutefois si un échange de gaz prometteur est obtenu, ce système est très limité en débit sanguin. De plus, avec une hauteur des microcanaux sanguins inférieure ou égale à 20 μm , la chute de pression entre l'entrée et la sortie du réseau des capillaires sanguins prend des valeurs élevées qui augmente avec le débit sanguin pour atteindre des valeurs non acceptables en clinique. Pour augmenter la performance en termes de transfert de gaz et de chute de pression, il convient donc d'augmenter la surface d'échange et la hauteur des microcanaux. Ceci qui devrait permettre de traiter des volumes sanguins plus élevés et de travailler à plus haut débit de sang.

Enfin, ce dispositif a été le premier à tester la coagulation du sang dans les capillaires sur plusieurs heures. Une augmentation significative de la chute de pression a été mesurée sur une période de 1 à 3 heures malgré l'utilisation d'anticoagulant (héparine) dans le sang, ce qui suggère la formation de caillots sanguins dans les microcanaux. L'inspection au microscope a montré que la formation de ces caillots se produisait principalement aux transitions entre les grands canaux et les plus petits où la hauteur varie de manière abrupte.

Avec ces premiers travaux précurseurs [18], l'équipe de Potkay a pu valider le concept et démontrer l'efficacité d'échange de gaz au sein d'une structure tri-couches à membrane fine cependant la possibilité d'une application clinique est réduite de part des dimensions biomimétiques trop petites pour fonctionner à haut débit, une chute de pression associée trop élevée, et des variations de hauteurs conduisant à des variations locales de contrainte de cisaillement à l'origine de la formation de caillots bouchant certains capillaires.

En 2014, Potkay [12] a résumé dans un article de revue l'ensemble des avancées de cette technologie d'oxygénateurs microfluidiques. Il y discute des défis futurs à surmonter pour une application clinique. A cette époque, les deux principaux obstacles étaient : 1) la fabrication à grande échelle d'un nombre suffisant de capillaires sanguins pouvant traiter des hauts débits sanguins et 2) l'hémocompatibilité. La technique d'empilement de plusieurs structures tri-couches en parallèle apparaissait comme une solution éventuelle, permettant d'augmenter la surface d'échange, le débit sanguin et le taux de transfert de gaz, sans élever la chute de pression ni la contrainte de cisaillement. Cependant, cette approche basée sur des structures unitaires biomimétiques de petite surface (de l'ordre du cm²)

supposait d'empiler environ un millier d'unités pour traiter un débit sanguin avoisinant un litre par minute. De nouvelles technologies de microfabrication simples et automatisées devraient donc être mises au point pour empiler rapidement un nombre important de structures tri-couches unitaires.

III.2.2 – Les premières études d'hémocompatibilité

Concernant l'hémocompatibilité, la plupart des applications cliniques exigent une durée de vie du dispositif comprise entre quelques jours et plusieurs mois. À ce jour, les oxygénateurs microfluidiques n'ont pas démontré cette durée de vie dans le temps. Le principal problème provient du fait qu'à l'échelle micrométrique, les dispositifs microfluidiques sont particulièrement vulnérables au phénomène de coagulation. Cela peut rapidement conduire au bouchage de certains microcanaux et diminuer ainsi l'efficacité du dispositif. Une approche potentielle serait de concevoir un réseau de microcanaux qui suit les lois de conception du système vasculaire naturel, notamment en s'appuyant sur le principe de la loi de Murray [16]. Cette loi stipule, en partie, qu'au niveau d'une bifurcation, la somme des diamètres au cube des vaisseaux filles doit être égale au diamètre au cube du vaisseau mère. Suivre cette loi au moment de la conception de la géométrie des capillaires sanguins artificiels permettrait d'obtenir une vitesse d'écoulement et une chute de pression semblables à celles de la vascularisation naturelle. Une deuxième stratégie complémentaire serait de recouvrir la paroi des microcanaux sanguins par un revêtement hémocompatible pour réduire la coagulation du sang. L'utilisation de cellules endothéliales venant « tapisser » l'intérieur des microcanaux est une solution qui a été envisagée au cours de ma thèse pour améliorer efficacement l'hémocompatibilité du dispositif. Nous discuterons de ce point dans le dernier chapitre expérimental.

En 2014, l'équipe de Potkay a modifié la surface des microcanaux sanguins en y déposant un revêtement de polyéthylène glycol (PEG) pour étudier l'hémocompatibilité du dispositif [29]. Il faut savoir que les surfaces hydrophobes comme le PDMS ont tendance à adsorber des niveaux élevés de protéines plasmatiques dont le fibrinogène, conduisant à une activation des plaquettes et à une coagulation du sang [12]. Au cours du processus de coagulation dans le corps humain, le fibrinogène se transforme en fibrine insoluble pour colmater, avec les agrégats plaquettaires, les brèches dans les vaisseaux sanguins à la suite de lésions [28]. L'utilisation de microcapillaires en PDMS sans revêtement hémocompatible est donc à éviter. Comme expliqué précédemment, toute coagulation locale provoquera une augmentation rapide de la chute de pression dans les microcanaux réduisant l'efficacité d'échange de gaz du microdispositif.

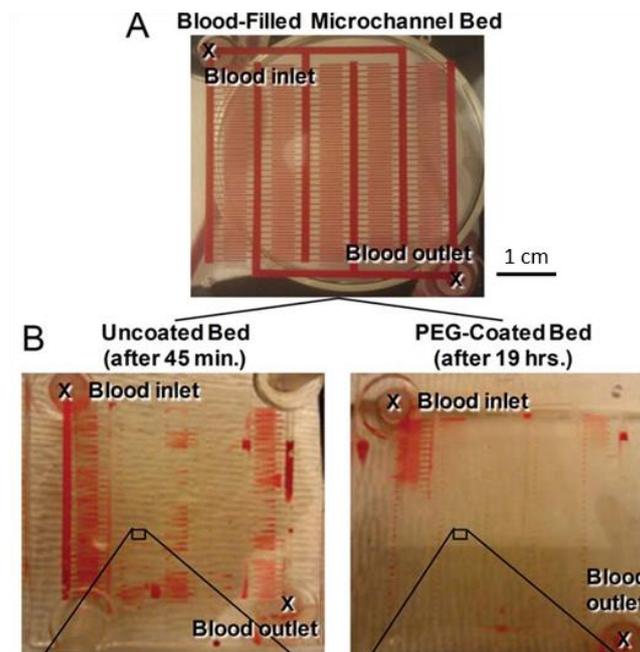


Figure 1.5. Images du dispositif de l'équipe de Potkay (A) rempli de sang hépariné en début d'expérience puis (B) à gauche, après 45 min, un dispositif PDMS sans revêtement ; et à droite, après 19 heures, un dispositif avec un revêtement PEG. Il est observé une coagulation importante en moins d'1 h dans les dispositifs sans revêtement.

Dans l'expérience de Potkay [29], le PEG a été greffé à la surface des microcanaux du PDMS à l'aide d'un pré-traitement de surface assisté par plasma. La modification de surface a immédiatement réduit l'angle de contact du PDMS de 105° à 5° . Au cours du temps, l'angle de contact de la surface modifiée par le PEG a graduellement augmenté et s'est stabilisé à 25° (au bout d'environ 10 jours). Des réseaux complexes contenant des microcanaux d'une hauteur de 225, 60 et 20 μm ont été modifiés avec du PEG et testés avec du sang de cochon hépariné à un débit de 0,7 ml/min pendant 19 heures (voir figure 1.5).

Les microcanaux modifiés par le PEG ont montré une réduction significative de l'adsorption du fibrinogène et de l'adhérence plaquettaire jusqu'à 28 jours après l'application, soulignant la stabilité et la fonctionnalité du revêtement au cours du temps. De plus, la chute pression dans les microcanaux modifiés par le PEG n'a doublé de valeur qu'après un temps 16 fois supérieure à celui mesuré pour un dispositif avec des microcanaux sans revêtement. Ces données montrent que le revêtement par le PEG pourrait être une solution pour assurer l'hydrophobicité et l'hémocompatibilité de la surface du PDMS à long terme. Cet article n'indique pas cependant si une étude a été réalisée pour vérifier l'influence du revêtement PEG sur l'échange de gaz.

III.2.3 – Les premiers dispositifs empilés hémocompatibles

En 2011 et 2012, Kniazeva *et coll.* [19,20] (équipe de Borenstein) propose un oxygénateur microfluidique biomimétique réalisé en empilant plusieurs structures tri-couches en parallèle pour augmenter la surface d'échange et le débit sanguin [19,20]. Ce dispositif imite plus étroitement l'architecture de la vascularisation humaine comparé aux dispositifs actuels, ce qui permet de réduire la taille du dispositif et le volume sanguin d'amorçage, en améliorant les échanges de gaz tout en augmentant l'hémocompatibilité. Chaque structure tri-couches est composée d'un module de sang et d'un module de gaz, séparés par une fine membrane de diffusion. Les entrées et les sorties du sang et du gaz d'oxygénation sont conçues de telle sorte qu'il n'y a pas d'interférence entre la circulation du

sang et celle du gaz d'oxygénation si on empile plusieurs structures tri-couches en parallèle. Les modules de sang et de gaz ainsi que la membrane de diffusion sont en polydiméthylsiloxane (PDMS). Les deux modules du sang et du gaz sont fixés des deux côtés de la membrane par activation d'un plasma d'oxygène.

Les modules de sang sont composés d'un réseau de microcanaux sanguins d'une hauteur homogène de 50 ou 100 μm et d'une largeur qui varie pour imiter les lois de conception du système vasculaire naturel. Avec une distribution uniforme du flux sanguin, la contrainte de cisaillement le long de la paroi est donc contrôlée comparativement à celle des dispositifs utilisant de grands collecteurs ouverts (comme les dispositifs cliniques actuels type ECMO). Comme discuté précédemment, ces règles de conception sont basées sur le principe de la loi de Murray [16], qui stipule qu'au niveau d'une bifurcation, la somme des diamètres au cube des vaisseaux filles est égale au diamètre au cube du vaisseau mère. Le module de gaz, quant à lui, est constitué d'une grande chambre ouverte pour maximiser la surface de contact avec les microcanaux sanguins ; la tenue mécanique de la membrane sur cette chambre est réalisée par l'intégration de piliers circulaires d'un diamètre de 100 μm . Chaque structure tri-couches permet un échange de gaz unilatéral, c'est-à-dire à travers une seule face des microcanaux sanguins. La surface d'échange de chaque structure tri-couches est encore inférieure au centimètre carré et vaut 0,852 cm^2 . L'épaisseur de la membrane est comprise entre 11 et 117 μm au cours de l'étude. La géométrie et l'alignement des modules de sang et de gaz, ainsi qu'une représentation d'un dispositif composé de 10 structures tri-couches empilées est illustrée dans la figure 1.6 (a) (b) (c).

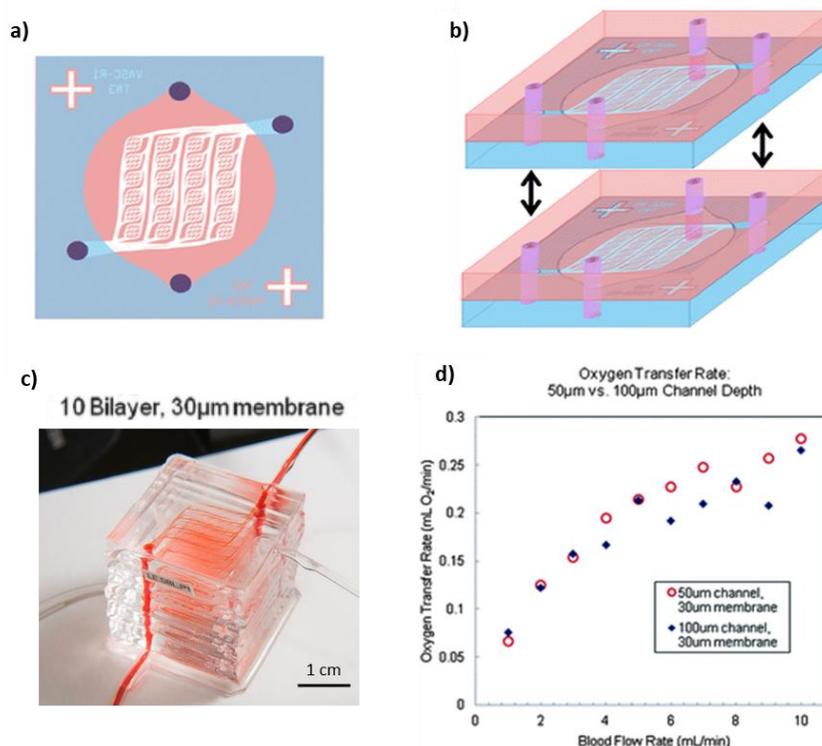


Figure 1.6. (a) Une vue schématique de dessus montre la superposition du module de sang et de gaz dans la structure tri-couches et (b) un schéma présentant l'empilement de deux structures tri-couches en parallèle. (c) une image d'un dispositif composé de 10 structures tri-couches empilées en parallèle. Les taux de transfert d'oxygène respectivement pour 10 structures empilées avec une hauteur de capillaires de 50 et 100 μm sont comparés en (d) [19].

Jusqu'à 10 structures tri-couches ont été empilées au cours de l'étude [20]. La capacité d'oxygénation a été testée avec une circulation du sang de cochon veineux hépariné dans les microcanaux sanguins tandis que de l'oxygène pur est envoyé dans les compartiments de gaz. Une analyse des gaz du sang est réalisée en amont et en sortie du dispositif pour différents débits sanguins. Avec un dispositif composé de 10 structures tri-couches empilées et une épaisseur de membrane de 30 μm , **un taux de transfert d'oxygène maximum de 0,25 ml O_2 /min a été obtenu pour un débit sanguin de 10 ml/min. Cette valeur correspond à 10 fois celle obtenue par Potkay *et coll.* en 2011 [18].** Le taux de transfert de dioxyde de carbone, quant à lui, n'est pas calculé dans cette étude. Avec une surface d'échange pour chaque structure tri-couches de 0,852 cm^2 , le taux de transfert d'oxygène normalisé à la surface d'échange est de **293 ml O_2 /min/ m^2 ce qui est plus élevé que le dispositif clinique Quadrox-i adult** (voir tableau 1.3).

On remarque dans les résultats que le taux de transfert d'oxygène pour une hauteur de microcanaux de 50 μm n'est que très légèrement plus élevé que celui obtenu avec une hauteur de 100 μm (figure 1.6 (d)). **On constate ici que l'influence de la hauteur des microcanaux n'est pas un paramètre si critique par opposition avec ce que Potkay affirmait dans ses premiers travaux.** D'autre part, comme attendu, le taux de transfert d'oxygène est aussi un peu plus élevé pour une épaisseur de membrane de 30 μm comparativement à 117 μm . Enfin la comparaison entre deux et dix structures tri-couches empilées a montré une relation presque linéaire du taux transfert d'oxygène avec l'augmentation du nombre de structures tri-couches [20].

Comme expliqué par Potkay [12], un des défis les plus importants des oxygénateurs microfluidique pour une application clinique est la possibilité d'augmenter de manière significative le volume sanguin traité par unité de temps. Dans ce contexte, Gimbel *et coll.* [21] (équipe de de Borenstein) propose en 2016 un dispositif plus grand, aussi bien horizontalement que verticalement. **Ainsi le dispositif comporte 14 structures tri-couches d'une surface d'échange de 3,3 cm^2 chacune empilées en parallèle.** Sur la figure 1.7, on peut voir la dimension de l'ancien dispositif comparé à celle du dispositif actuel. La capacité d'oxygénation a été mesurée en utilisant le même protocole que précédemment. **Le taux de transfert d'oxygène maximal obtenu est de 1,2 ml O_2 /min pour un débit sanguin de 25 ml/min. En 2016, ces valeurs faisaient l'état de l'art.** Le taux de transfert d'oxygène normalisé à la surface d'échange est de **270 ml O_2 /min/ m^2 ce qui est toujours plus élevé que le dispositif clinique Quadrox-i adult** (voir tableau 1.3). Cette étude a permis de montrer qu'il existe une excellente corrélation entre le taux de transfert d'oxygène et la surface d'échange totale du dispositif.

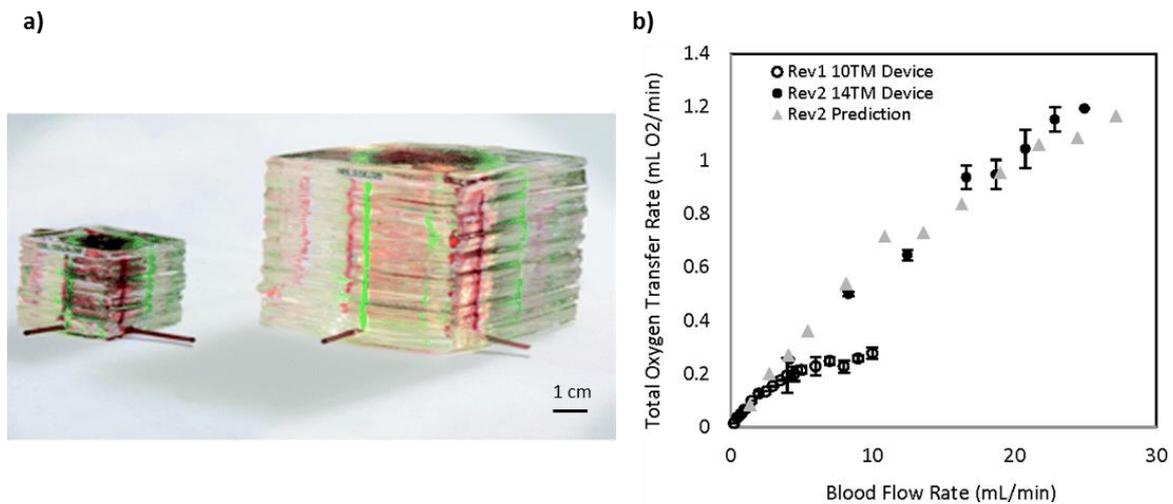


Figure 1.7. (a) Images de l'ancien dispositif composé de 10 structures tri-couches avec une surface d'échange de $0,85 \text{ cm}^2$ par structure tri-couches unitaire (à gauche) et du dispositif actuel composé de 14 structures tri-couches avec une surface d'échange de $3,3 \text{ cm}^2$ par structure tri-couches unitaire (à droite), et (b) l'évolution du taux de transfert d'oxygène avec le débit sanguin mesurée et comparée pour ces deux dispositifs [21].

En parallèle, Gimbel *et coll.* [21] a également orienté ses travaux sur l'hémocompatibilité qui est un autre obstacle au développement des oxygénateurs microfluidiques pour les applications cliniques. Comme expliqué précédemment dans les travaux de Potkay [12], il s'agit de réduire les interactions entre le sang et la surface des microcanaux afin d'éviter au mieux la coagulation. Pour cela, Gimbel a **été le premier à proposer de cultiver des cellules endothéliales humaines dans les microcapillaires sanguins de ses oxygénateurs microfluidiques**. Il a mis au point la culture de ces cellules dans les microcanaux, puis il a observé l'efficacité de ce revêtement naturel sur la coagulation. Une comparaison a été réalisée avec trois dispositifs similaires. Afin de démontrer une nette différence sur la coagulation, la géométrie du réseau de microcanaux comporte des régions où les propriétés d'écoulement sont censées entraîner une coagulation rapide et sévère. D'autre part, pour éviter la mise au point du procédé d'endothélialisation à grande échelle, seuls des dispositifs unitaires composés d'une seule structure tri-couches ont été endothélialisés.

Du sang de cochon veineux hépariné est envoyé dans chacun des six dispositifs à un débit sanguin de 2 ml/min (3 dispositifs sans revêtement et 3 dispositifs endothélialisés). Pour vérifier la formation de thrombus, une évaluation visuelle est réalisée avant et après le lavage des dispositifs exposés au flux sanguin. Les images des différents dispositifs sont présentées sur la figure 1.8. On remarque que des agrégats de fibres se sont formés sur plus de la moitié de la surface des dispositifs sans revêtement. A contrario, une formation minimale de fibres est observée dans les dispositifs recouverts de cellules endothéliales. Cette première expérience montre que la coagulation est considérablement atténuée dans les dispositifs avec des capillaires recouverts de cellules endothéliales.

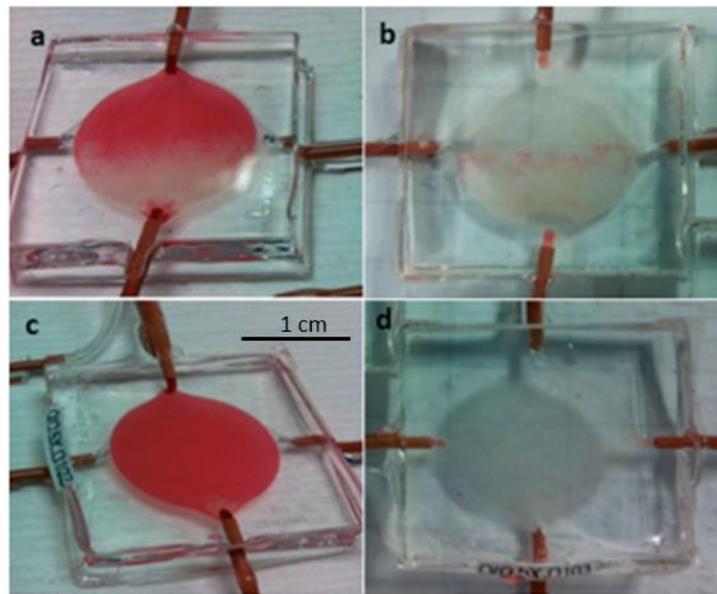


Figure 1.8. La formation de thrombus (fibres) au cours de l'expérimentation s'est manifestée par une occlusion de l'écoulement dans les dispositifs sans revêtement (a), tandis que l'on a observé une occlusion minimale de l'écoulement dans les dispositifs homologues composés d'un revêtement de cellules endothéliales (c). Le rinçage des dispositifs montre que le dispositif sans revêtement (b) contient une formation de thrombus plus importante que le dispositif composé d'un revêtement de cellules endothéliales (d). On peut noter que l'occlusion du flux se produit près du centre du dispositif (a) qui correspond à la formation de caillots de fibrine visualisée dans la même zone dans le dispositif rincé (b). [21].

Une autre expérimentation a été réalisée pour vérifier l'influence du revêtement de cellules endothéliales sur la capacité d'oxygénation du dispositif. Trois dispositifs sans revêtement et trois dispositifs avec un revêtement de cellules endothéliales sont testés en utilisant le même protocole que précédemment pour l'évaluation de la capacité d'oxygénation [19-21]. Le débit sanguin est compris entre 0,3 et 2,7 ml/min. **Gimbel constate que la présence d'un revêtement de cellules endothéliales n'atténue pas le taux de transfert d'oxygène dans les dispositifs.** Cette conclusion est encourageante et suggère que cette voie peut être exploitée pour améliorer l'hémocompatibilité des dispositifs sans perdre en capacité d'oxygénation. Cependant d'autres études doivent être réalisées pour confirmer le fait que le revêtement de cellules endothéliales aurait des propriétés hémocompatibles et ne réduirait pas l'échange de gaz : premièrement sur des dispositifs à plus grand échelle et avec un débit sanguin plus élevé ; deuxièmement sur des temps plus longs (plusieurs heures) et, enfin, avec du sang non hépariné en entrée.

Malgré un dispositif à fort potentiel notamment sur l'hémocompatibilité, la surface d'échange reste encore trop petite pour une seule structure tri-couches et oblige à un nombre élevé d'empilement pour obtenir de hauts débits sanguins. En plus d'agrandir la hauteur finale du dispositif, un nombre élevé d'empilement augmente les coûts ainsi que le temps et la complexité de fabrication. Par ailleurs, l'échange de gaz unilatéral participe à la réduction de la surface d'échange. Si l'épaisseur des modules de sang et de gaz étaient réduites à une dizaine voire une centaine de micromètres, un échange de gaz bilatéral (sur deux faces des microcanaux sanguin) permettrait d'augmenter la surface d'échange d'un facteur 2.

III.2.4 – Les dispositifs empilés à haut débit sanguin

En 2015, Rieper *et coll.* [23] a développé un nouvel oxygénateur microfluidique à grande échelle, dont l'objectif était d'augmenter significativement la surface d'échange et le volume de sang traité par unité de temps. Avec un processus de fabrication proche de l'industrialisation, les modules de sang et de gaz sont empilés et collés en alternance. Chaque module est séparé par une épaisseur de PDMS de 100 μm correspondant à la membrane de diffusion. Avec cette configuration, l'échange de gaz est bilatéral, c'est à dire s'effectuant sur les deux faces opposées des microcanaux sanguins. Cela permet d'augmenter la surface d'échange d'un facteur 2 sans agrandir le dispositif ni augmenter la chute de pression. Pour réduire la longueur du module de gaz et par conséquent réduire la chute de pression à l'intérieur, deux compartiments de gaz sont disposés en parallèle, avec une orientation perpendiculaire au module du sang. Un schéma de la disposition du module de sang et de gaz est illustré dans la figure 1.9.

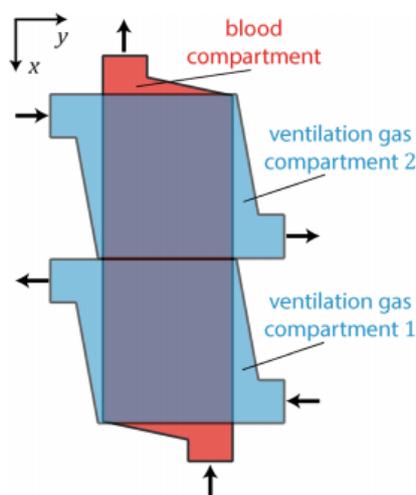


Figure 1.9. Schéma montrant la disposition du module de sang et de gaz. Les microcanaux sanguins sont recouvert par un module de gaz composé de deux compartiments parallèles. Les flèches indiquent la direction d'écoulement du sang et du gaz. [23].

Le collage utilisé pour sceller le dispositif est une fine couche de PDMS non recuite. Ce collage est particulièrement adapté aux grandes surfaces (cette méthode sera détaillée partie II du chapitre 4). Chaque module de sang est composé de 40 microcanaux parallèles dont la hauteur, la largeur et la longueur sont respectivement de 100 μm , 1 mm et 250 mm. Un dispositif composé de 10 structures tri-couches empilées est illustré dans la figure 1.10. On peut voir également une vue transversale de l'empilement des modules de sang et de gaz.

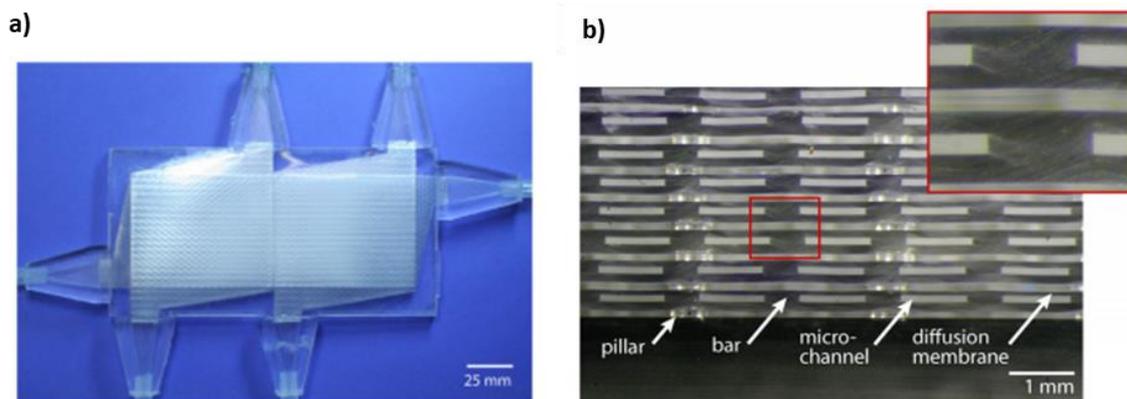


Figure 1.10. (a) Une vue de dessus d'un dispositif composé de 10 structures tri-couches empilées (10 modules de sang et 11 modules de gaz), et (b) une vue transversale de l'empilement des modules de sang et de gaz. [23].

Les travaux de Rieper *et coll.* [23] ont montré **des débits sanguins pouvant aller jusqu'à 50 ml/min pour 10 structures tri-couches empilées en parallèle** (10 modules de sang et 11 modules de gaz), ce qui constitue une avancée majeure pour les oxygénateurs microfluidiques. Une limitation sur le nombre de module empilé n'est pas observée. Le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur. **Avec un débit sanguin de 5 ml/min et une surface d'échange de 120 cm² par module de sang, le taux de transfert de gaz rapporté à la surface d'échange est de 25 ml/min/m² pour l'oxygène et de 30 ml/min/m² pour le dioxyde de carbone, ce qui est bien inférieur aux valeurs de Potkay 2011 [18] et Gimbel 2016 [21], ainsi qu'au dispositif clinique Quadrox-i adult** (voir tableau 1.3). Cela est en partie dû à un agrandissement de la dimension des microcanaux de sang et de l'épaisseur de la membrane qui réduit l'échange de gaz.

Par rapport aux systèmes ECMO, le débit sanguin est toujours nettement inférieur. Par conséquent le taux de transfert de gaz par minute est toujours insuffisant pour une application clinique. **Néanmoins, avec un taux de transfert de gaz de 3 ml O₂/min pour l'oxygène et de 3,6 ml CO₂/min pour le dioxyde de carbone pour un débit sanguin de 50 ml/min**, ce dispositif est une avancée majeure pour les oxygénateurs microfluidique. Comme cela était attendu, Rieper montre qu'en utilisant de l'air comme gaz d'oxygénation, le taux de concentration d'oxygène transféré dans le sang chute de moitié avec une valeur de 13 ml/min/m² alors que le taux de concentration de dioxyde de carbone transféré n'est que très peu influencé. D'autre part, on constate que la variation du débit du gaz d'oxygénation ne montre aucune influence sur le taux de transfert de gaz.

Au repos, un adulte consomme environ 250 ml O₂/min et produit 200 ml CO₂/min [1-3]. Pour couvrir l'échange de gaz nécessaire, un empilement de 833 modules de sang serait nécessaire (correspondant à un volume d'amorçage de 580 ml, plus de deux fois plus que les systèmes ECMO actuels). **D'autre part, pour obtenir un débit sanguin d'1 l/min, qui est le débit sanguin minimum pour une application clinique, il faudrait empiler 200 modules de sang en parallèle. Le taux de transfert de gaz correspondant serait de 60 ml O₂/min pour l'oxygène et 72 ml CO₂/min pour le dioxyde de carbone, ce qui respecte les normes cliniques (minimum de 45 ml O₂/min/l et 38 ml CO₂/min/l [22]).**

Le nombre de modules à empiler pourrait être réduit en diminuant notablement l'épaisseur de la membrane (100 μm ici) et en augmentant la surface d'échange sur chaque structure tri-couches (en élevant le nombre de microcanaux par module de sang par exemple). Le débit sanguin ainsi que le taux de transfert de gaz pourraient donc être augmenté.

Il faut remarquer que dans cette étude, la géométrie n'a pas été définie de manière biomimétique en respectant les lois de conception naturelle (loi de Murray [16]) afin d'obtenir un flux le plus uniforme possible. Cela souligne ici la nécessité d'élaborer des géométries de structures tri-couches unitaires qui suivent cette loi de Murray même pour les dispositifs empilés. Cela permettrait de conserver les propriétés d'hémocompatibilité de chaque structure unitaire tout en maximisant le volume de sang traité par l'empilement de ces structures.

Un des obstacles actuels pour l'application clinique des oxygénateurs microfluidique est la nécessité d'empiler des centaines voire des milliers de structures tri-couches en parallèle pour atteindre des débits sanguins pertinents. Comme expliqué précédemment, la nécessité d'empiler un grand nombre de structures tri-couches augmente les coûts ainsi que la complexité et le temps de fabrication. Cela augmente également la taille finale du dispositif qui peut devenir encombrant. Dans ce contexte, Thompson *et coll.* [24] (équipe de Potkay) propose en 2018, une analyse numérique pour l'optimisation et la conception d'une seule structure tri-couches dans le but de réduire le nombre de structures tri-couches à empiler en vue d'une application clinique. Les principaux objectifs de l'optimisation sont les suivants : 1) augmenter au maximum le débit sanguin tout en conservant un échange de gaz efficace ; 2) minimiser la surface de contact entre le sang et le dispositif et réduire le volume sanguin d'amorçage. En effet, il a déjà été démontré que la réduction de la surface de contact minimise la réponse immunitaire du corps humain. De même, la réduction du volume sanguin d'amorçage améliore considérablement les résultats pour les patients [14] ; enfin 3) maintenir une chute de pression et une contrainte de cisaillement raisonnable. La conception théorique du dispositif comporte 9870 capillaires d'une hauteur de 30 μm , d'une largeur de 120 μm et d'une longueur de 3,3 mm, ce qui offre **une surface d'échange efficace de 31,5 cm^2** . Deux canaux verticaux principaux et vingt-deux canaux horizontaux secondaires d'une hauteur de 250 μm constituent le réseau de distribution qui achemine le sang jusque dans les capillaires artificiels. Les canaux de distribution varient en largeur de 1 mm à 30 μm . Cette conception montre un faible volume sanguin d'amorçage de 0,47 ml pour une surface de contact du sang de 126 cm^2 et une contrainte de cisaillement théorique dans les capillaires de 45 dyn/cm^2 . La géométrie des microcanaux sanguins imite au plus près l'échelle physiologique notamment en respectant les lois de Murray [16,30] au niveau des bifurcations. Comme expliqué plus haut, Murray a développé des équations basées sur le principe du travail minimum qui permettent de déterminer les diamètres du vaisseau mère et des vaisseaux filles, ainsi que les angles de branchement entre le vaisseau mère et les vaisseaux filles [16,30]. Dans cette conception, les diamètres des canaux, mais aussi les angles au niveau des bifurcations sont optimisés. Les principaux avantages du circuit d'écoulement biomimétique sont une répartition plus uniforme des contraintes de cisaillement et une distribution plus efficace du sang vers les capillaires artificiels de petites dimensions. L'épaisseur de la membrane a été fixée à 30 μm , ce qui est facilement réalisable en microfabrication tout en permettant un bon échange de gaz. Les deux modules de sang et de gaz sont fixés des deux côtés de la membrane avec un collage plasma oxygène. Comme pour les précédents oxygénateurs, la capacité d'oxygénation du dispositif a été testée en utilisant du sang de cochon veineux et de l'oxygène pur comme gaz d'oxygénation. La figure 1.11 (A) montre un dispositif sous flux sanguin pendant le test de la capacité d'oxygénation. Après l'expérimentation, le dispositif a été sectionné pour visualiser l'interface

d'échange de gaz (Figure 1.11 (B)). **Le taux de transfert d'oxygène maximum obtenu pendant l'expérimentation est de 0,4 ml O₂/min pour un débit sanguin de 17 ml/min.** La chute de pression a été mesurée à 66 mmHg. A titre indicatif, le taux de transfert de dioxyde de carbone n'est pas mentionné dans l'article.

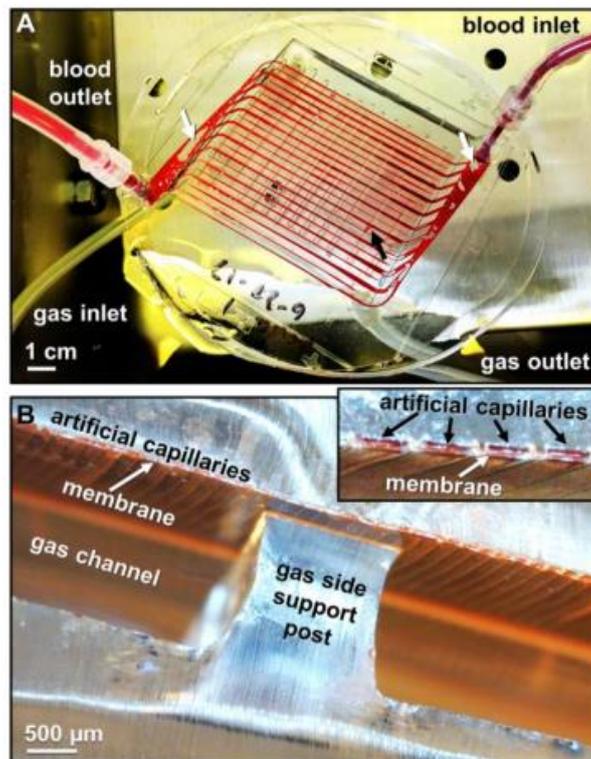


Figure 1.11. (A) Dispositif microfluidique sous flux sanguin pendant le test d'oxygénation. Le sang veineux entre dans le coin supérieur droit et sort, oxygéné dans le coin inférieur gauche. (B) Une vue transversale en gros plan sur les capillaires sanguins du dispositif sectionné après les tests d'oxygénation. [24].

Par rapport aux précédents oxygénateurs microfluidiques, la conception actuelle proposée par Thompson *et coll.* [24] exige beaucoup moins de structures tri-couches pour obtenir un débit sanguin pertinent. Le débit sanguin minimal pour une application clinique chez l'humain adulte est d'environ 1 l/min, **ce qui nécessiterait 59 structures tri-couches empilées en parallèle.** Cette amélioration permet de réduire les coûts et les temps de fabrication. L'optimisation du dispositif permet également de réduire la surface de contact du sang, ainsi que le volume sanguin d'amorçage dans le but d'augmenter la durée de vie des futurs dispositifs en minimisant la réponse du corps humain à ce corps étranger.

Malgré un dispositif prometteur, certaines limitations du dispositif nécessitent une discussion plus approfondie. Comme énoncé plus haut, d'après l'AAMI (Association for the Advancement of Medical Instrumentation), le débit sanguin de référence est établi au débit sanguin le plus élevé pouvant fournir au moins 45 ml O₂/min/l [22]. **Pour un empilement de 59 structures tri-couches et un débit sanguin d'1 l/min, le dispositif proposé ci-dessus ne pourrait fournir que 23,6 ml O₂/min (0,4 ml O₂/min par structure tri-couches unitaire), ce qui est environ deux fois moins que la norme requise.** Malgré un débit sanguin élevé sur une seule structure tri-couches, il convient de montrer la nécessité d'améliorer l'échange de gaz. L'échange de gaz pourrait être augmenté par exemple, en permettant un échange

de gaz bilatéral sur deux faces opposées des capillaires sanguins. Une telle amélioration permettrait de doubler la surface d'échange sans impact négatif sur le volume sanguin d'amorçage, la surface totale de contact avec le sang ou la chute de pression. D'autre part, le rapport ne mentionne pas la réalisation d'un dispositif composé de plusieurs structures tri-couches empilées en parallèle.

Toujours dans la recherche de microdispositifs pouvant travailler à haut débit sanguin, en 2018, Dabaghi *et coll.* [25] a proposé un dispositif qui pourrait être utilisé pour les nouveau-nés prématurés souffrant du syndrome de détresse respiratoire (SDR). Une approche biomimétique consiste à utiliser le cordon ombilical comme accès vasculaire, et à connecter un dispositif passif au bébé qui fonctionne comme un placenta. Ce concept, connu sous le nom de placenta artificiel, fournit assez d'oxygénation et provoque peu de détresse ou de complications. Ce dispositif est conçu pour permettre un échange de gaz élevé, un faible volume sanguin d'amorçage et une faible résistance hydraulique de sorte qu'il puisse être utilisé uniquement par la pression différentielle fournie par le cœur du bébé. Une chute de pression maximale de 60 mmHg est recommandée. D'autre part, pour imiter le placenta, le dispositif est mince et flexible. Cela permet une utilisation en étant plié sous différentes formes.

Ce nouvel oxygénateur microfluidique à grande échelle est composé uniquement d'un réseau de microcanaux sanguins de très grande taille millimétrique avec une largeur de 1 mm, entourés des deux côtés par une membrane de PDMS renforcée mécaniquement par des grilles de polytétrafluoroéthylène (PTFE) poreux. Un ensemble de piliers rectangulaires d'une dimension de 1x1 mm², espacés de 1 mm, permet de soutenir les membranes de grandes surfaces, formant ainsi le réseau des microcanaux sanguins. Il est important de noter que cette géométrie n'est pas du tout biomimétique et ne suit pas la loi de Murray. La figure 1.12 montre premièrement une vue 3D (a) et une vue de dessus (b) de la géométrie du dispositif. On peut voir deuxièmement, une vue transversale, obtenue au MEB, d'un microcanal sanguin entouré par les deux membranes de PDMS renforcées (c). Les membranes sont directement en contact avec l'air ambiant et le dispositif ne requiert donc pas de modules de gaz. Cela permet de réduire la complexité de fabrication, ainsi que la taille du dispositif. D'autre part, l'utilisation d'un flux de gaz d'oxygénation n'est pas nécessaire.

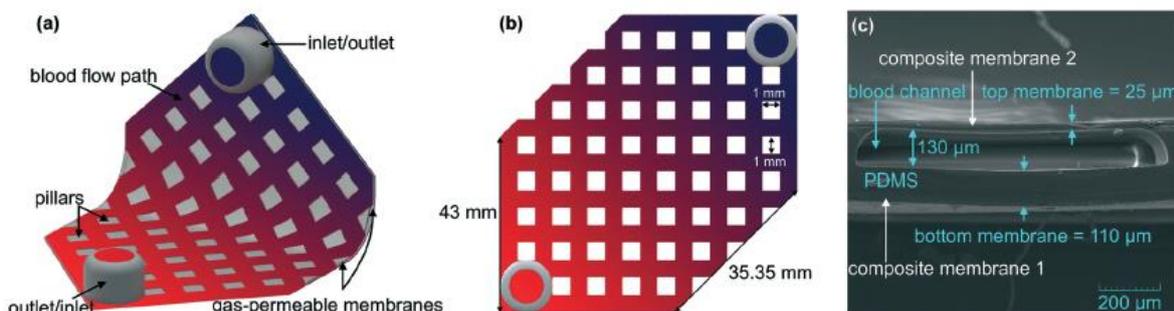


Figure 1.12. Une vue 3D (a) et une vue de dessus (b) du dispositif. En (c) une image MEB d'une section transversale du dispositif. Le microcanal sanguin est entouré par deux membranes de PDMS renforcées d'une épaisseur de 110 et 25 μm . [25].

Trois configurations différentes sont présentées dans l'article.

Tout d'abord le premier dispositif est composé de microcanaux sanguins d'une hauteur de 130 μm avec une surface d'échange de 46,7 cm^2 et un volume sanguin d'amorçage d'environ 0,38 ml. Basé sur une grande stabilité mécanique, le dispositif perfusé avec de l'eau colorée peut-être plié ou roulé selon différentes formes sans fuite et sans introduction de bulles d'air. Pour évaluer la capacité d'échange de gaz, le dispositif a été testé avec du sang de cochon veineux à un débit sanguin allant de 0,5 à 8 ml/min, sous un environnement d'air ambiant ou d'oxygène pur. L'environnement d'oxygène pur est créé en plaçant le dispositif dans une chambre hermétique remplie d'oxygène à la pression atmosphérique [33]. Comme cela était attendu, le taux de transfert d'oxygène est bien plus élevé dans un environnement d'oxygène pur que dans l'air ambiant. Pour la suite des expérimentations, un environnement d'oxygène pur est donc privilégié. Il est également important de mentionner que le taux de transfert de dioxyde de carbone est plus élevé dans un environnement d'air ambiant qu'en oxygène pur. Cela peut être dû à l'accumulation de dioxyde de carbone dans la chambre hermétique. Pour atténuer ce phénomène, un renouvellement régulier de l'oxygène peut être réalisé. Nous apprenons dans cette étude, que la chute de pression ainsi que le taux de transfert d'oxygène ne sont quasiment pas modifiées si le dispositif est plat ou plié, voire enroulé sur lui-même. Cela prouve que le dispositif garde toute sa fonctionnalité d'échange de gaz même s'il est plié et utilisé sous différentes formes. En ce sens, ce dispositif est donc très original.

Pour augmenter le débit sanguin afin d'obtenir un taux de transfert de gaz suffisant pour permettre une utilisation du dispositif sur des nouveau-nés, une configuration en forme de fleur est conçue, illustrée sur la figure 1.13. Elle est composée de quatre modules de sang connectés en parallèle avec une hauteur de microcanaux de 100 μm et une surface d'échange de 66,9 cm^2 . Cette configuration permet un faible volume sanguin d'amorçage de 0,84 ml.

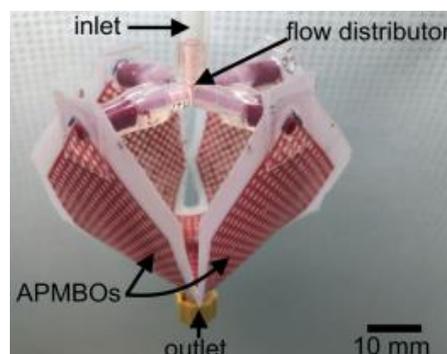


Figure 1.13. Représentation d'un oxygénateur en forme de fleur composé de 4 dispositifs connectés en parallèle. [25].

En utilisant un environnement d'oxygène pur, on constate que **le taux de transfert d'oxygène augmente jusqu'à un débit sanguin de 16 ml/min et se stabilise à 20 ml/min avec une valeur de 0,754 ml O_2 /min, ce qui montre la capacité maximale du taux de transfert de d'oxygène. Le taux de transfert de dioxyde de carbone augmente également graduellement jusqu'à une valeur de 0,969 ml CO_2 /min pour un débit sanguin de 20 ml/min.** La chute de pression est mesurée à 80 mmHg pour un débit sanguin maximal de 20 ml/min.

Enfin, la dernière configuration réalisée est composée d'un seul module de sang de grande taille roulé dans un cylindre de façon à ce que les entrées et les sorties soient adjacentes. Cette configuration, illustrée sur la figure 1.14, permet de réduire le nombre de tubulures externes, ce qui réduit le volume sanguin d'amorçage. Avec une surface d'échange de 100 cm² et une hauteur de microcanaux sanguins de 160 µm, le volume sanguin d'amorçage est de 1,25 ml seulement. La hauteur des microcanaux est augmenté pour réduire la chute de pression.

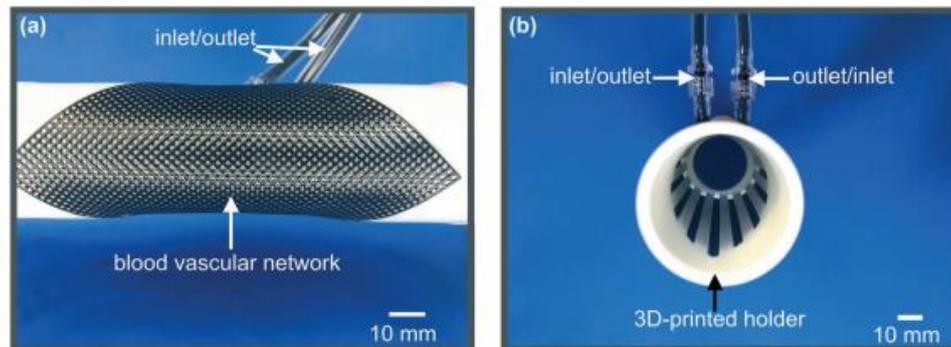


Figure 1.14. Représentation de l'oxygénateur roulé dans un cylindre avec (a) une vue de dessus et (b) une vue transversale du dispositif. [25].

Pour un débit sanguin maximal de 20 ml/min, le taux de transfert maximal obtenu est de 0,877 ml O₂/min pour l'oxygène et de 0,757 ml CO₂/min pour le dioxyde de carbone. Le taux de transfert de gaz normalisé à la surface d'échange est donc de 87,7 ml O₂/min/m² pour l'oxygène et de 75,7 ml CO₂/min/m², ce qui est inférieur au dispositif clinique Quadrox-i adult (voir tableau 1.3). La chute de pression reste quant à elle inférieure à 60 mmHg pour tous les débits sanguins. Pour un bébé prématuré, un dispositif placentaire artificiel devrait fournir un taux de transfert d'oxygène compris entre 1,3 et 1,9 ml O₂/min/kg du poids du bébé [25]. Le dispositif pourrait donc être utilisé pour des nouveau-nés d'un poids de 675g.

Cette approche originale de conception des oxygénateurs microfluidique est une avancée majeure en termes de portabilité et d'échange de gaz. Le taux de transfert de gaz rapporté est actuellement le plus élevé des oxygénateurs microfluidiques pour un seul module de sang. Cela ouvre la voie à la fabrication d'un oxygénateur composé de plusieurs modules de sang connectés en parallèle afin d'augmenter le débit sanguin et le taux de transfert de gaz.

En 2019, Dabaghi *et coll.* [26] connecte 8 modules de sang en parallèle pour répondre aux besoins estimés d'échange de gaz pour des nouveau-nés prématurés pesant jusqu'à 2kg. Une configuration parallèle a été choisie pour augmenter le taux de transfert de gaz en faisant circuler des débits sanguins plus élevés sans impact sur la chute de pression ou sur la capacité d'échange de gaz des modules de sang. Le sang est distribué dans chaque module grâce à un distributeur de flux dont la géométrie des canaux de branchement respecte les lois de Murray dans le but d'assurer une distribution douce et uniforme du flux sanguin. Chaque module de sang a une surface d'échange de 100 cm² et une hauteur des microcanaux sanguin de 160 μm. **Le volume sanguin d'amorçage est de 12,5 ml, ce qui reste toujours bien plus faible que les dispositifs actuels destinés aux nourrissons, à savoir 38 ml pour Quadrox-i Néonatal et 81 ml pour Quadrox-i Pédiatrique [31].** Le dispositif est illustré à la figure 1.15.

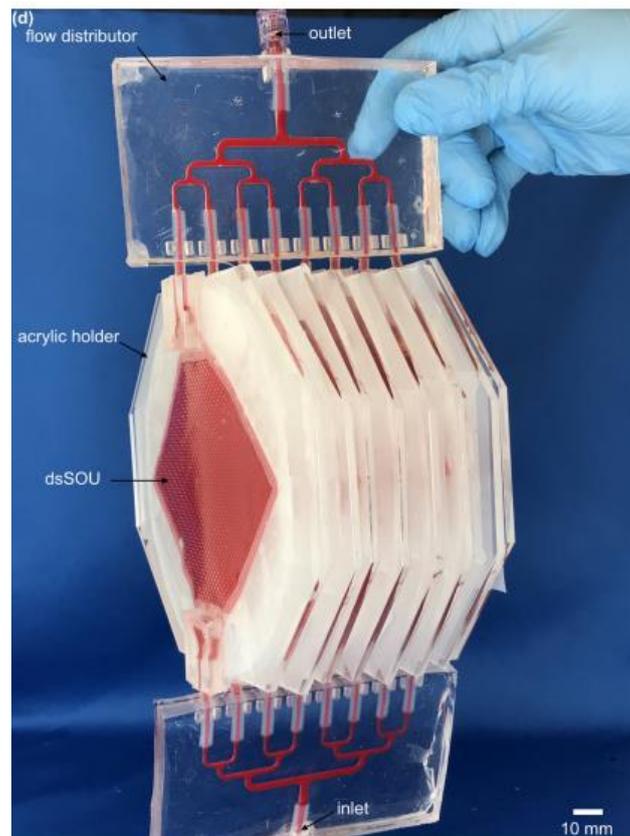


Figure 1.15. Dispositif microfluidique composé de 8 modules de sang connectés en parallèle. Un distributeur de flux à l'entrée à la sortie des modules de sang permet de distribuer et de récupérer uniformément le flux sanguin. [26].

La capacité de transfert de gaz a été évaluée avec du sang de cochon veineux à des débits compris entre 10 et 60 ml/min dans un environnement d'air ambiant et entre 30 et 150 ml/min dans un environnement d'oxygène pur. La chute de pression de fonctionnement qui se situe dans la gamme de 20 à 60 mmHg (pour satisfaire aux conditions de fonctionnement sans pompage d'un oxygénateur artificiel de type placenta), est obtenue pour des débits inférieurs à 60 ml/min. Pour un débit sanguin de 60 ml/min, la saturation en oxygène ($SatO_2$) en sortie chute à environ 70% dans un environnement d'air ambiant alors qu'elle reste à 100% dans environnement d'oxygène pur (pour une saturation en oxygène en entrée de 55%).

Pour un débit sanguin de 60 ml/min et dans un environnement d'oxygène pur, le taux de transfert de gaz obtenu est de 3,14 ml O₂/min pour l'oxygène et de 3,2 ml CO₂/min pour le dioxyde de carbone. Le dispositif pourrait être utilisé pour des nouveau-nés qui pèsent jusqu'à 2kg. A noter que le taux de transfert de dioxyde de carbone semble être un peu plus élevé avec un environnement d'air ambiant plutôt qu'en oxygène pur.

Pour un débit sanguin de 30 ml/min et dans un environnement d'air ambiant, *SatO₂* en sortie est plus raisonnable que pour un débit de 60 ml/min avec une valeur de 84%. Le taux de transfert d'oxygène correspondant est de 1 ml O₂/min et permettrait de subvenir aux besoins d'un nouveau-né prématuré de 770g.

Il faut tout de même mentionner que le dispositif fonctionne pour un débit sanguin allant jusqu'à 100 ml/min avec un taux de transfert de gaz de 4,2 ml O₂/min pour l'oxygène (la saturation en oxygène en sortie est de 82%) et de 4 ml CO₂/min pour le dioxyde de carbone. Le taux de transfert de gaz rapporté à la surface d'échange est 52,5 ml O₂/min/m² pour l'oxygène et de 50 ml CO₂/min/m², ce qui reste inférieur au dispositif clinique Quadrox-i adult (voir tableau 1.3). La chute de pression à ce débit est de 100 mmHg.

Ce dispositif présente le plus haut taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone réalisé jusqu'à aujourd'hui. Malgré tout, l'inconvénient avec cette architecture est que l'assemblage parallèle réduit la compacité du dispositif, un espace entre chaque module de sang est nécessaire pour l'échange de gaz (échange de gaz bilatéral). Cela augmente également le nombre de connexions entre les modules et donc augmente également le volume sanguin d'amorçage. De plus, l'utilisation d'une chambre hermétique pour obtenir un environnement d'oxygène pure comme gaz d'oxygénation doit rendre le dispositif encore plus encombrant (aucune photo n'est montrée d'un dispositif sous environnement d'oxygène pur).

Enfin, la géométrie des microcanaux n'est pas conçue de manière à respecter la loi de Murray pour uniformiser le flux sanguin (excepté pour le distributeur de flux en entrée). D'autres expérimentations pourraient être réalisées pour vérifier l'hémocompatibilité du dispositif à long terme. Par ailleurs, un revêtement hémocompatible pourrait être déposé sur la paroi des microcanaux sanguins pour ralentir la coagulation du sang.

III.2.5 – Conclusion

Le tableau 1.4 donne les principales caractéristiques des dispositifs microfluidiques existants à ce jour et présentés dans ce chapitre. La première ligne du tableau en bleu correspond au système clinique actuel Quadrox-i adult pour comparaison. Au moins un des oxygénateurs de chaque grand groupe de recherche qui étudie les poumons artificiels est présenté dans le tableau, choisi en fonction du plus haut taux de transfert d'oxygène. Les dispositifs sont composés d'une seule ou de plusieurs structures tri-couches connectées en parallèle. Le taux de transfert de dioxyde de carbone n'est pas reporté dans ce tableau pour plus de clarté et pour une meilleure comparaison entre les études en ne se basant que sur un seul paramètre à comparer. De plus toutes les études ne reportent pas le taux de transfert de dioxyde de carbone en priorisant le taux de transfert d'oxygène. D'autre part, il faut mentionner que dans la plupart des cas la performance d'oxygénation va de pair avec la performance de retrait du dioxyde de carbone, car ce sont les mêmes paramètres qui permettent d'améliorer le taux de transfert d'oxygène et le taux de transfert de dioxyde de carbone.

	H_c (μm)	e_m (μm)	Chute de pression (mmHg)	N_b structures tri-couches	V_s (ml)	Taux de transfert d'O ₂ (ml O ₂ /min)	Surface d'échange totale (m ²)	Taux de transfert d'O ₂ normalisé à la surface d'échange (ml O ₂ /min/m ²)	Q (ml/min)
Quadrox-i adult [13]	-	-	75	-	215	430	1,8	238	7000
Potkay 2011 [18]	10	15	300	1	-	0,036	0,000167	215	1,6
Kniazeva et coll. 2012 [20]	50	30	-	10	0,085	0,25	0,000852	293	10
Gimbel et coll. 2016 [21]	50	30	-	14	0,231	1,2	0,0046	261	25
Rieper et coll. 2015 [23]	100	100	80	10	-	3,06	0,036	25	50
Thompson et coll. 2018 [24]	30	30	66	1	0,47	0,400	0,0031	129	17
Dabaghiet coll. 2018 [25]	160	25 / 110	48	1	1	0,877	0,0100	87,7	20
Dabaghiet coll. 2019 [26]	160	30 / 120	100	8	12,5	4,2	0,0800	52,5	100

Tableau 1.4. Principales caractéristiques des dispositifs microfluidiques existants à ce jour et présentés dans ce chapitre. La première ligne du tableau en bleu correspond au système clinique actuel Quadrox-i adult. Les paramètres reportés sont la hauteur des capillaires sanguin (H_c), l'épaisseur de la membrane e_m , la chute de pression dans le dispositif, le nombre de structures tri-couches empilées (N_b structures tri-couches), le volume sanguin d'amorçage (V_s), le taux de transfert d'oxygène, la surface d'échange, le débit sanguin (Q) ainsi que le taux de transfert d'oxygène normalisé à la surface d'échange afin de fournir une meilleure comparaison entre tous les dispositifs.

On remarque qu'il existe deux familles d'oxygénateurs microfluidiques : la famille des premiers oxygénateurs biomimétiques [18,20,21], et celle des 4 derniers oxygénateurs aux plus grandes dimensions [23-26]. Les 3 premiers oxygénateurs [18,20,21] du tableau proposent des dispositifs biomimétiques basés sur une architecture qui respecte les lois naturelles des vaisseaux sanguins et qui présentent de petites dimensions des microcanaux ainsi qu'une fine épaisseur de membrane. Le taux de transfert d'oxygène normalisé à la surface d'échange est très élevé (proche ou supérieur au dispositif Quadrox-i adult) ce qui atteste d'un bon échange de gaz au sein du dispositif. D'autre part, un autre avantage est le volume sanguin d'amorçage qui est très faible. L'inconvénient principal pour ces dispositifs est qu'ils ne permettent pas de traiter de hauts débits sanguins, sauf pour Gimbel *et coll.* [21] avec les 14 structures tri-couches empilées en parallèle.

Les 4 derniers oxygénateurs [23-26] du tableau proposent des dispositifs non biomimétiques de plus grande dimension, avec une surface d'échange plus importante pour augmenter simultanément le débit sanguin et le taux de transfert d'oxygène. En effet, le taux de transfert d'oxygène est bien plus important mais, en contrepartie, le taux de transfert d'oxygène rapporté à la surface d'échange est beaucoup moins élevé que la famille des premiers oxygénateurs. Ceci montre que l'échange de gaz est moins performant sur une surface donnée et que l'architecture pourrait être optimisée. Enfin il faut mentionner la chute de pression moins élevée grâce aux plus grandes dimensions des capillaires sanguins.

Pour obtenir un bon échange de gaz tout en traitant un débit sanguin élevé, il est donc nécessaire de trouver un bon compromis dans le dimensionnement des microcanaux tout en maximisant la surface d'échange et en réduisant la chute de pression entre l'entrée et la sortie du réseau de sang. A ce jour, nous estimons que Gimbel *et coll.* [21] est celui qui présente le meilleur compromis des dimensions des microcanaux, malgré une surface d'échange trop petite.

Enfin, en conclusion de cet état de l'art bibliographique, nous observons que malgré des avancées significatives pour optimiser tous les paramètres géométriques d'un oxygénateur microfluidique, il n'existe aujourd'hui aucun système permettant d'obtenir des taux de transfert de gaz élevés à haut débit sanguin, tout en suivant les lois énoncées par Murray qui permettent d'uniformiser le flux sanguin en minimisant la contrainte de cisaillement, dans les régions de transition entre l'injecteur et le réseau des microcapillaires sanguins. Maintenir une hémocompatibilité sur plusieurs jours de circulation du sang dans ce type de microdispositif reste aussi un enjeu majeur qui n'a été aujourd'hui étudié que de manière préliminaire, par l'équipe de Gimbel *et coll.* en 2016 [21].

IV – But de cette thèse

L'objectif principal de cette thèse est le développement d'un nouvel oxygénateur microfluidique biocompatible portable, capable de réaliser la fonction physiologique du poumon naturel et de lui apporter une assistance en cas de défaillance. Cela ajouterait une nouvelle solution thérapeutique aux patients souffrant de SDRA, en attente d'une greffe pulmonaire.

Notre travail visait premièrement à augmenter le débit sanguin tout en maintenant un échange de gaz suffisant. En réalité, les oxygénateurs microfluidiques actuels ne permettent pas de traiter des volumes sanguins importants du fait de la petite dimension des microcanaux. Aujourd'hui, le débit sanguin maximum d'un dispositif microfluidique combiné à un échange de gaz efficace est de 100 ml/min [26] alors que le débit sanguin minimal requis pour une application clinique sur l'homme est d'1 l/min.

Deuxièmement, notre travail avait pour but la réalisation d'un dispositif compact et de taille minimale pour le bien-être des patients, avec une opérabilité à long terme sur plusieurs jours, voire plusieurs semaines. Actuellement, il n'existe pas d'étude qui montre l'utilisation d'oxygénateurs microfluidiques sur plus de 3h. D'autre part, de nombreux dispositifs microfluidiques sont encombrants à cause d'une architecture non optimisée, ou d'un nombre important de structures tri-couches connectées en parallèle [21,26].

Enfin au cours de cette étude, nous avons pour objectif dès le début de mener des recherches sur l'hémocompatibilité en déposant sur les parois des microcanaux, un revêtement hémocompatible et/ou des cellules endothéliales, afin de prolonger la durée de vie de l'oxygénateur et de réduire la nécessité d'un traitement anti-coagulant.

Pour répondre aux demandes cliniques, le dispositif doit donc respecter certaines exigences qui sont :

- 1) Apporter un taux de transfert de gaz le plus efficace possible, ce qui nécessite non seulement un bon échange de gaz mais également un débit sanguin élevé.
- 2) Assurer une absence totale de fuite de sang au sein du dispositif et à travers la membrane.
- 3) Minimiser la chute de pression et la contrainte de cisaillement dans le module de sang.
- 4) Proposer des matériaux biocompatibles, et ajouter un revêtement hémocompatible sur les parois en contact avec le flux sanguin.

Comme la plupart des dispositifs évoqués précédemment, notre oxygénateur est composé de deux modules microstructurés, un module de sang et un module de gaz séparés par une fine membrane de diffusion formant une structure tri-couches. L'objectif principal au cours de cette étude a donc été :

- 1) D'améliorer la géométrie d'une seule structure tri-couches en augmentant la surface d'échange dans le but de réduire le nombre de structures à empiler. Ceci devrait permettre de réduire les coûts de fabrication ainsi que la complexité du procédé de fabrication et de minimiser la taille du dispositif.
- 2) De minimiser le risque de coagulation. Le réseau de microcanaux sanguins a été conçu pour qu'il n'y ait pas de zone de turbulence, ni de zone sans flux où le sang stagne. Le flux sanguin est strictement guidé.
- 3) De permettre une bonne stabilité mécanique de la fine membrane de diffusion entre les deux modules. Le réseau de microcanaux de gaz a été conçu en priorité dans cet objectif.
- 4) De proposer une épaisseur de membrane réduite afin de limiter la résistance à la diffusion des gaz. Le matériau choisi pour la membrane de diffusion est le PDMS, qui est un polymère biocompatible très perméable. De plus, la membrane de PDMS est dense pour écarter tout risque de fuite de sang à travers la membrane.
- 5) De proposer un dispositif complètement étanche. Ce qui est possible grâce à la mise au point d'un protocole de collage humide qui permet de sceller efficacement toute la structure tri-couches sur une grande surface de 4 pouces.

Une compréhension plus approfondie des mécanismes de transfert de gaz est essentielle. En particulier, il est important de connaître les paramètres qui vont influencer les échanges gazeux. Les caractéristiques fluidiques du sang doivent également être considérées et étudiées. Dans ce contexte, des calculs numériques ont été réalisés, premièrement pour estimer la chute de pression et deuxièmement pour évaluer l'échange de gaz en s'appuyant sur le modèle mathématique proposé par Potkay en 2013 [32]. **Ces calculs numériques décrits dans le chapitre 2** vont permettre de trouver un compromis pour la hauteur des microcanaux sanguins, hauteur suffisamment petite pour maximiser les échanges gazeux mais assez grande pour minimiser la chute de pression.

L'ensemble des travaux relatifs à la microfabrication, y compris la mise au point du collage humide par tamponnage seront décrits dans le chapitre 3. Je n'y rapporte que les expériences effectuées avec le matériau PDMS bien que d'autres matériaux aient été testés au début de cette thèse.

Enfin, le dernier chapitre 4 rapporte les expérimentations qui ont été réalisées, à l'hôpital Marie Lannelongue avec du sang veineux de cochon, pour vérifier l'adéquation et la précision des calculs numériques.

Cette thèse a été réalisée, dans le cadre du projet RHU ANR BioArtLung H2020, en étroite collaboration avec le Pr. Olaf Mercier et deux équipes de l'Inserm (U1197 et U1176).

Références bibliographiques du Chapitre 1

- [1] Hall, J. E. (2011). Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, PA: Saunders, Philadelphia, 12th edn.
- [2] Laraichi, Z. (2019). ECMO et autres assistances circulatoires en anesthésie-réanimation. Thèse de doctorat, CHU Hassan II, Fès.
- [3] Naassila, M (2014). Enseignement : la fonction respiratoire. Université de Picardie Jules Vernes. Internet, disponible sur :
- https://listes.u-picardie.fr/wws/d_read/physiologie/enseignement/L3S6/La%20Fonction%20Respiratoire.pdf
- [4] Didier, A (2011). Enseignement : le développement anatomo-physiologique. Hôpital des enfants – (CHU) de bordeaux. Internet, disponible sur : https://reanesth.chu-bordeaux.fr/prog/defindex.php?idCor=Cor_e6ff8804fe08ea5950fa24c05c482c62&plein_ecran=1
- [5] Guilbert, A (2017). ECMO veino-veineuse dans le SDRA réfractaire : évaluation des pratiques de 2010 à 2015 au CHU de Rouen. Thèse de doctorat, U.F.R de médecine et de pharmacie de Rouen.
- [6] Schmidt, M., Luyt, C.-E., Bréchet, N. & Combes, A. (2020). Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) et syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) sévère (Chapitre 85 du traité complet). Réanimation, 91-99.
- [7] Buzon, J. (2018). Facteurs associés à la morbi-mortalité chez les patients traités par ECMO dans un service de réanimation médicale : étude monocentrique rétrospective. Thèse de doctorat, université de Lorraine, Nancy.
- [8] Le Guen, M., & Parquin, F. (2015). Place de l'assistance extracorporelle en pathologie respiratoire. Journal Européen Des Urgences et de Réanimation, 27(4), 183–194.
- [9] Schmidt, M., Hajage, D., Lebreton, G., Monsel, A., Voiriot, G., Levy, D., ... Meng, P. (2020). Extracorporeal membrane oxygenation for severe acute respiratory distress syndrome associated with COVID-19: a retrospective cohort study. The Lancet Respiratory Medicine.
- [10] Extracorporeal Life Support Organization, ECLS registry International Summary, July 2020. Internet, disponible sur : <https://www.else.org/Registry/Statistics/InternationalSummary.aspx>
- [11] Extracorporeal Membrane Oxygenation for ARDS in Adults. (2012). New England Journal of Medicine, 366(6), 575–576.
- [12] Potkay, J. A. (2014). The promise of microfluidic artificial lungs. Lab Chip, 14(21), 4122–4138
- [13] Maquet Cardiopulmonary, gettinge group. (2015). QUADROX-i Adult und Small Adult Brochure. Internet, disponible sur : https://www.getinge.com/siteassets/products-a-z/quadrox-i-adult--small-adult/quadrox_i_smalladult_adult_mcp_br_10075_en_1_screen.pdf?disclaimerAccepted=yes
- [14] Novalung GmbH, Heilbronn, Germany. (2019). iLA Membrane ventilator, technical data sheet. Internet, disponible sur : https://www.xenios-ag.com/wp-content/uploads/2020/02/Novalung_iLA-Membrane-Ventilator-technical-data-sheet_EN_001_2019_09.pdf

[15] Fischer, S., Strueber, M. The Novalung(R) iLA membrane ventilator: technical aspects. CTSNet. Internet, disponible sur :

<https://www.ctsnet.org/article/novalungr-ila-membrane-ventilator-technical-aspects#:~:text=Configuration%20of%20the%20hollow%20fiber,complex%20configuration%20of%20hollow%20fibers.>

[16] Murray, C. D. (1926). The Physiological Principle of Minimum Work: I. The Vascular System and the Cost of Blood Volume. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 12(3), 207–214.

[17] LaFayette, N. G., Schewe, R. E., Montoya, J. P., & Cook, K. E. (2009). Performance of a MedArray Silicone Hollow Fiber Oxygenator. *ASAIO Journal*, 55(4), 382–387.

[18] Potkay, J. A., Magnetta, M., Vinson, A., & Cmolik, B. (2011). Bio-inspired, efficient, artificial lung employing air as the ventilating gas. *Lab on a Chip*, 11(17), 2901.

[19] Kniazeva, T., Hsiao, J. C., Charest, J. L., & Borenstein, J. T. (2011). A microfluidic respiratory assist device with high gas permeance for artificial lung applications. *Biomed Microdevices*, 13(3), 315–323.

[20] Kniazeva, T., Epshteyn, A. A., Hsiao, J. C., Kim, E. S., Kolachalama, V. B., Charest, J. L., & Borenstein, J. T. (2012). Performance and scaling effects in a multilayer microfluidic extracorporeal lung oxygenation device. *Lab on a Chip*, 12(9), 1686.

[21] Gimbel, A. A., Flores, E., Koo, A., García-Cardena, G., & Borenstein, J. T. (2016). Development of a biomimetic microfluidic oxygen transfer device. *Lab on a Chip*, 16(17), 3227–3234.

[22] Myers, G. J. (2014). Understanding Off-Label Use and Reference Blood Flows in Modern Membrane Oxygenators. *The Journal of ExtraCorporeal Technology*, 46(3), 192–196.

[23] Rieper, T., Müller, C., & Reinecke, H. (2015). Novel scalable and monolithically integrated extracorporeal gas exchange device. *Biomedical Microdevices*, 17(5).

[24] Thompson, A. J., Ma, L. J., Plegue, T. J., & Potkay, J. A. (2018). Design Analysis and Optimization of a Single Layer PDMS Microfluidic Artificial Lung. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 1–1.

[25] Dabaghi, M., Saraei, N., Fusch, G., Rochow, N., Brash, J. L., Fusch, C., & Selvaganapathy, P. R. (2018). An Ultra-thin Highly Flexible Microfluidic Device for Blood Oxygenation. *Lab on a Chip*.

[26] Dabaghi, M., Saraei, N., Fusch, G., Rochow, N., Brash, J. L., Fusch, C., & Ravi Selvaganapathy, P. (2019). An ultra-thin, all PDMS-based microfluidic lung assist device with high oxygenation capacity. *Biomicrofluidics*, 13(3), 034116.

[27] Hoganson, D. M., Pryor II, H. I., Bassett, E. K., Spool, I. D., & Vacanti, J. P. (2011). Lung assist device technology with physiologic blood flow developed on a tissue engineered scaffold platform. *Lab Chip*, 11(4), 700–707.

[28] Yeromonahos, C. (2011). Nanostructure des fibres de fibrine. Thèse de doctorat, université de Grenoble.

- [29] Kovach, K. M., Capadona, J. R., Sen Gupta, A., & Potkay, J. A. (2014). The effects of PEG-based surface modification of PDMS microchannels on long-term hemocompatibility. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, n/a–n/a.
- [30] Murray, C. D. (1926). The physiological principle of minimum work applied to the angle of branching of arteries. *The Journal of General Physiology*, 9(6), 835–841.
- [31] Malankowska, M., Julian, I., Pellejero, I., Rho, H.S., Schlautmann, S., Tiggelaar, R.M., Pina, M.P., Gardeniers, H.J.G.E., & Mallada, R. (2019). Understanding blood oxygenation in a microfluidic meander double side membrane contactor. *Sensors & Actuators: B. Chemical*, 414–424.
- [32] Potkay, J. A. (2013). A simple, closed-form, mathematical model for gas exchange in microchannel artificial lungs. *Biomedical Microdevices*, 15(3), 397–406.
- [33] Dabaghi, M., Fusch, G., Saraei, N., Rochow, N., Brash, J. L., Fusch, C., & Ravi Selvaganapathy, P. (2018). An artificial placenta type microfluidic blood oxygenator with double-sided gas transfer microchannels and its integration as a neonatal lung assist device. *Biomicrofluidics*, 12(4), 044101.
- [34] Dezube, D. (2019). Échanges d'oxygène et de dioxyde de carbone. Le manuel MSD. Sur internet, disponible sur : <https://www.msmanuals.com/fr/accueil/troubles-pulmonaires-et-des-voies-a%C3%A9riennes/biologie-des-poumons-et-des-voies-respiratoires/%C3%A9changes-d-oxyg%C3%A8ne-et-de-dioxyde-de-carbone>

Chapitre 2 – Calculs théoriques

Comme la plupart des oxygénateurs microfluidiques actuels, notre dispositif est composé de deux modules de PDMS microstructurés (un module de sang et un module de gaz) séparés par une fine membrane de diffusion en PDMS formant ainsi une structure tri-couches. Dans une première partie de ce chapitre, nous présentons les différentes géométries du dispositif, c'est-à-dire les géométries des deux réseaux de microcanaux du module de sang et du module de gaz. Le but est d'aboutir à une géométrie la plus appropriée possible pour un obtenir bon échange de gaz en maximisant la surface d'échange, et pour uniformiser le flux sanguin afin de réduire le phénomène de coagulation. Il convient de mentionner que la géométrie doit permettre d'empiler plusieurs structures tri-couches en parallèle afin d'augmenter la surface d'échange du dispositif et le débit sanguin.

Dans une deuxième partie, nous décrivons les lois d'écoulement du sang dans des canaux de taille micrométrique qui aboutissent à des calculs numériques. Les normes cliniques de la chute de pression au sein d'un dispositif extracorporel sont exposées afin de comprendre les contraintes imposées pour la réalisation d'un oxygénateur microfluidique. Ces calculs numériques réalisés pour la géométrie du modèle III nous permettent, premièrement, d'estimer la hauteur optimale de capillaires sanguins pour minimiser la chute de pression au sein du dispositif et, deuxièmement, d'estimer le débit sanguin maximal que l'on peut administrer tout en respectant les normes cliniques. Ces calculs permettent aussi d'évaluer le rôle d'autres paramètres comme la longueur des capillaires sanguins et la surface d'échange.

Etant donnée que l'efficacité de l'échange de gaz du dispositif est déterminée par les dimensions des capillaires sanguins, la surface d'échange, l'épaisseur de la membrane, la perméabilité du matériau de la membrane et le débit sanguin, une deuxième série de calculs numériques basés sur le modèle mathématique de Potkay [25] pour l'échange de gaz est décrite dans une troisième partie. Comme pour les calculs numériques de chute de pression, nous utilisons la géométrie du modèle III. Ces calculs numériques permettent de comprendre les paramètres géométriques qui influent le plus sur l'échange de gaz. Ils m'ont permis aussi de déterminer la hauteur des capillaires sanguins optimale ainsi que l'épaisseur de la membrane adéquate pour une résistance minimale à l'échange de gaz. Nous verrons qu'il convient d'établir un compromis entre les résultats des calculs numériques de chute de pression et ceux d'efficacité d'échange de gaz.

I – La géométrie du dispositif

Notre dispositif est composé de deux modules de PDMS microstructurés (un module de sang et un module de gaz) séparés par une fine membrane de diffusion en PDMS, formant une structure tri-couches, comme illustrée figure 2.1. Il convient de noter que les microcanaux sanguins du module de sang sont appelés « capillaires sanguins » et les microcanaux du module de gaz sont appelés « microcanaux d'oxygénation ». Dans cette partie, nous décrivons l'évolution des géométries du dispositif réalisées au cours de ce doctorat. Chaque géométrie est désignée par « modèle » suivie du chiffre romain correspondant (par ordre chronologique de fabrication) : modèle I, modèle II, modèle III et modèle IV. Nous appelons « géométrie du dispositif », les géométries des deux réseaux de microcanaux du côté du module de sang et du côté du module de gaz. Le but ici est d'obtenir une géométrie la plus adéquat possible premièrement pour maximiser la surface d'échange, c'est-à-dire maximiser la surface de la membrane en contact avec les capillaires sanguins et les microcanaux d'oxygénation ; et deuxièmement pour uniformiser le plus possible le flux sanguin afin de réduire la coagulation du sang au sein du dispositif. Il faut mentionner que l'architecture doit permettre également de superposer plusieurs structures tri-couches en parallèle afin d'augmenter par la suite la surface d'échange et le débit sanguin. Enfin la géométrie des deux réseaux de microcanaux doit être assez dense pour maintenir correctement la membrane, sans que celle-ci se déforme au cours des injections de sang et de gaz de chaque côté de la membrane.

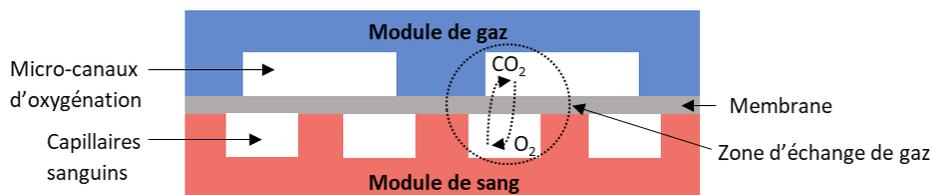


Figure 2.1. Vue de profil d'une structure tri-couches de l'oxygénateur microfluidique

Nous présentons ci-dessous l'évolution des géométries du dispositif jusqu'à la géométrie actuelle, le modèle III. La géométrie du modèle I n'a été utilisée que pour des tests fluidiques et mécaniques au sein du laboratoire (voir partie IV du chapitre 3). Les tests d'oxygénation et de retrait du CO₂ ont été réalisés premièrement avec la géométrie du « modèle II » puis avec la géométrie du « modèle III » (voir chap.4). Le modèle III, qui est le modèle le plus récent, est le modèle utilisé lors des calculs numériques de chute de pression et d'échange de gaz. Nous avons également réalisé une autre géométrie en parallèle du modèle III, appelée modèle IV, plus adaptée au dépôt de cellules endothéliales qu'à l'échange de gaz. Avec une surface d'échange plus petite que le modèle III, cette géométrie du modèle IV n'a été utilisée pour le moment que pour des tests d'oxygénation et de retrait du CO₂ notamment pour vérifier l'influence de la surface d'échange sur l'échange de gaz (voir partie I.2.4 du chapitre 4).

I.1 – Modèle I

Afin de maximiser la surface recouverte par les capillaires sanguins, nous avons imaginé une géométrie du module de sang de compacité élevée avec des capillaires courbés et répartis en cercle autour de l'entrée du sang, comme illustré figure 2.2 (le sang circule dans les parties blanches de l'image). D'un diamètre de 10 cm, la géométrie est adaptée à la taille des plaques de silicium 4 pouces utilisées lors de la fabrication du moule (voir chapitre 3). L'entrée du sang est centrale, tandis qu'un réservoir circulaire, d'une largeur de 6 mm, récupère le sang en sortie des capillaires courbés. Cette géométrie innovante permet d'intégrer un réseau de 256 capillaires d'une largeur de 200 μm , avec une surface totale de 33,35 cm^2 (comprenant l'arborescence d'entrée, les capillaires sanguins et le réservoir circulaire de sortie). L'arborescence d'entrée est constituée de 4 niveaux de canaux de largeurs décroissantes venant alimenter les 256 capillaires. Ce type d'arborescence permet de réduire le débit de l'entrée centrale vers les capillaires courbés. Nous avons choisi des arborescences de forme circulaire plutôt que rectangulaire pour éviter les amas cellulaires et/ou une uniformité du flux sanguin au niveau des angles des intersections. A noter que cette géométrie peut être agrandie en surface.

Concernant le module de gaz, la géométrie du réseau de microcanaux d'oxygénation est la même que celle du module de sang. On peut voir sur la figure 2.3 une représentation de la superposition des deux modules de sang et de gaz. Cette géométrie modèle I à l'avantage d'être très stable mécaniquement au niveau des capillaires et des microcanaux d'oxygénation, car la membrane est bien maintenue entre deux réseaux denses de microcanaux se superposant en forme de quadrillage de chaque côté de la membrane. D'autre part, la fabrication du dispositif est simplifiée car la géométrie est la même pour le module de sang et le module de gaz.

L'inconvénient principal de cette première géométrie est que l'entrée et la sortie (réservoir circulaire) du sang et du gaz d'oxygénation se situent au même niveau sur le dispositif, ce qui rend impossible un empilement de plusieurs structures tri-couches. D'autre part, lors des tests d'écoulements fluidiques, nous avons remarqué une non-uniformité du flux dans le réservoir circulaire des deux modules de sang et de gaz, avec l'apparition de nombreuses bulles d'air coincées (voir figure 3.39). Cela est dû à la déformation de la membrane (que l'on voit bouger à l'œil nu) entre le réservoir circulaire du module de sang et le réservoir circulaire du module de gaz. Celle-ci n'est pas assez bien maintenue entre deux réservoirs circulaires situés au même niveau et de grande largeur.

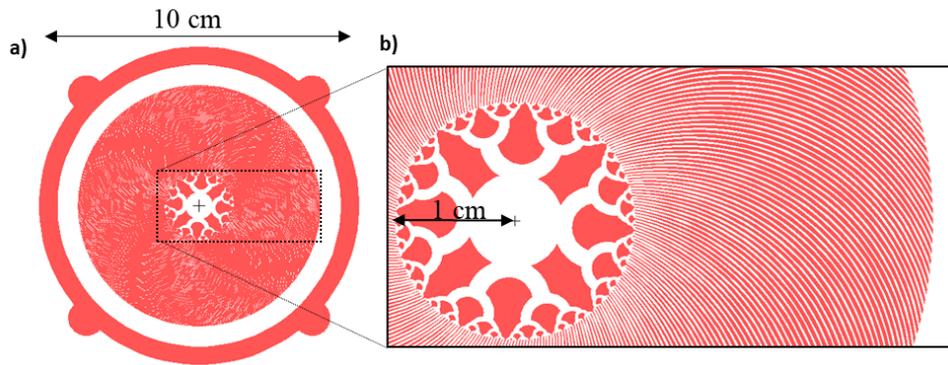


Figure 2.2. Vue de dessus de la géométrie du module de sang « modèle I », avec (a) une vue générale et (b) un zoom sur la partie centrale de l'arborescence d'entrée et une partie des capillaires sanguins. Le sang circule dans les zones blanches du dessin.

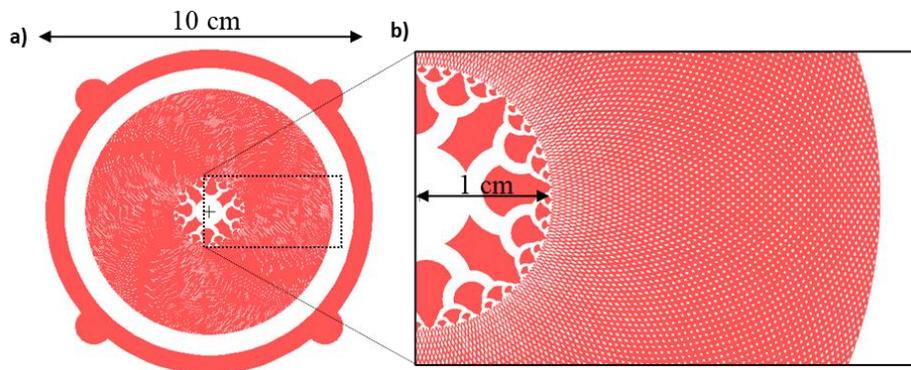


Figure 2.3. Vue de dessus de la superposition du module de sang et du module de gaz pour la géométrie « modèle I », avec (a) une vue générale et (b) un zoom sur la partie centrale des injecteurs et une partie des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation. Le sang et le gaz d'oxygénation circule dans les zones blanches du dessin. Pour la géométrie modèle I, la géométrie du réseau de microcanaux est la même pour le module de sang et le module de gaz. Lorsque les deux modules sont superposés, on peut voir un réseau dense de microcanaux se superposant en forme de quadrillage qui entoure la membrane.

I.2 – Modèle II

Afin d'améliorer la géométrie et avoir la possibilité de superposer plusieurs structures tri-couches en parallèle, nous avons modifié la géométrie du module de gaz, comme illustrée figure 2.4. Le module de sang, quant à lui, reste le même. Le module de gaz optimisé est composé de 2 entrées latérales débouchant sur des microcanaux circulaires d'une largeur de 400 μm , et 2 sorties latérales. Les entrées et les sorties ont la forme de demi-cercles sur le dessin. Le réseau des microcanaux d'oxygénation a été conçu pour que les entrées et sorties du sang et du gaz d'oxygénation ne soient pas au même niveau. Ceci va permettre d'empiler plusieurs structures tri-couches en parallèle sans qu'il n'y ait d'interférences entre la circulation du sang et celle du gaz d'oxygénation. Le sang qui est injecté au centre et ressort dans l'anneau extérieur, circulera de bas en haut dans les systèmes empilés. Le gaz d'oxygénation est injecté latéralement sur deux des entrées opposées (demi-cercles haut et bas de la figure 2.4 (a)) et ressort toujours latéralement au niveau des deux autres demi-cercles. On peut voir

sur la figure 2.5, une superposition du module de sang et de gaz, formant une structure tri-couche de la géométrie « modèle II ». On remarque une densité importante du réseau des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation qui permet d'assurer une bonne tenue mécanique de la membrane.

Pendant les premiers tests d'oxygénation, nous avons observé une non-uniformité du flux sanguin dans le réservoir circulaire du module de sang du fait de sa trop grande largeur. La circulation du sang n'est pas guidée et de nombreuses bulles d'air restent coincées (voir figure 4.3). De plus, à cause d'une mauvaise estimation des dimensions au moment de la réalisation du module de gaz optimisé, nous avons constaté sur la figure 2.5 que le réservoir circulaire de sang empiète sur les entrées et sorties du gaz d'oxygénation, rendant plus compliqué que prévu la superposition de plusieurs structures tri-couches.

Dans ce contexte, nous décidons d'améliorer le module de sang en réduisant la largeur du réservoir circulaire pour arriver à la géométrie du modèle III présentée dans la section suivante.

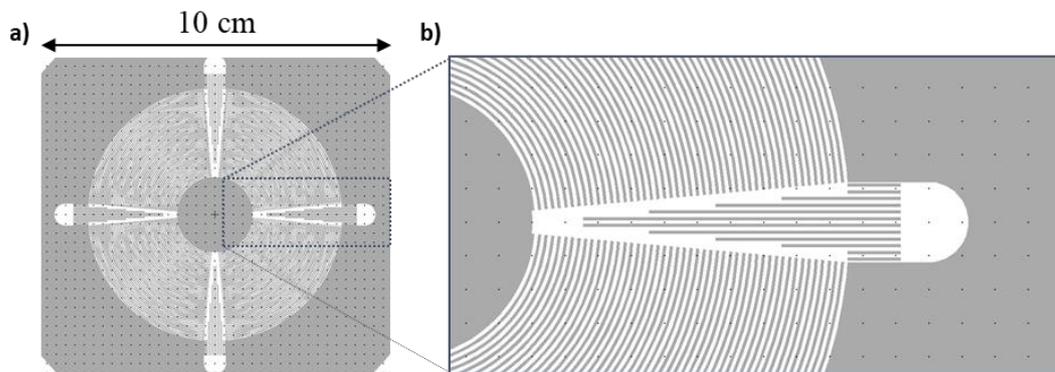


Figure 2.4. Vue de dessus de la géométrie du module de gaz optimisé pour la géométrie du modèle II avec (a) une vue générale et (b) un zoom sur une injection d'entrée du gaz et une partie des microcanaux d'oxygénation. Le gaz d'oxygénation circule dans les zones blanches du dessin.

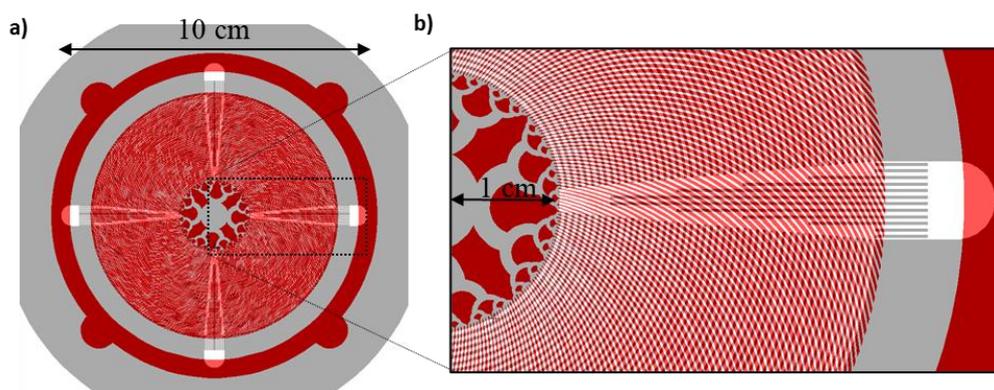


Figure 2.5. Vue de dessus de la superposition du module de sang et du module de gaz optimisé pour la géométrie « modèle II », avec (a) une vue générale et (b) un zoom sur une partie des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation superposés, et une des injections d'entrée du gaz d'oxygénation. Le sang et le gaz d'oxygénation circulent dans les zones blanches du dessin.

I.3 – Modèle III

Sur la base de nos premières expériences avec les dispositifs « modèle II », nous avons encore modifié le dessin pour proposer la géométrie du modèle III. La largeur du réservoir circulaire du module de sang y est réduite à 3 mm (au lieu de 6 mm). Le module de gaz, quant à lui, reste le même que celui présenté précédemment pour le module II. Sur la figure 2.6 est illustrée une superposition du module de sang et de gaz formant une structure tri-couche de la géométrie « modèle III », qui est la géométrie la plus récente. On constate lors des tests d'oxygénation que le flux sanguin semble plus uniforme que le modèle II et est strictement guidé. Il n'y a plus de bulles d'air stagnantes (voir figure 4.5).

Cette géométrie optimisée du module de sang a une surface totale de 26,35 cm² (comprenant l'arborescence d'entrée, les capillaires sanguins et le réservoir circulaire de sortie). La surface d'échange (correspondant seulement aux capillaires sanguins en contact avec les microcanaux d'oxygénation) est de 10,71 cm², ce qui équivaut à une importante surface efficace d'échange de 40,65 %.

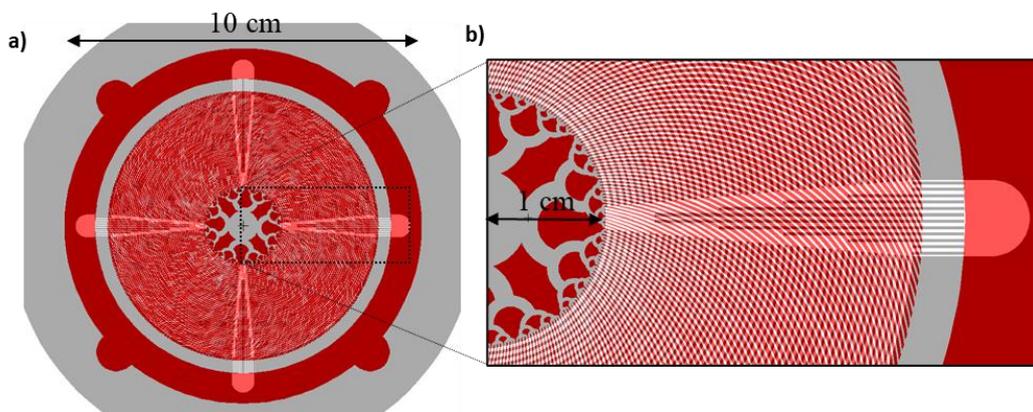


Figure 2.6. Vue de dessus de la superposition du module de sang et du module de gaz pour la géométrie « modèle III », avec (a) une vue générale et (b) un zoom sur une partie des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation superposés, et une des injections d'entrée du gaz d'oxygénation. On constate la réduction de la largeur du réservoir circulaire du module de sang qui « n'empiète plus » sur les entrées et sorties du gaz d'oxygénation. Le sang et le gaz d'oxygénation circulent dans les zones blanches du dessin.

I.4 – Modèle IV

En parallèle du modèle III, nous avons réalisé une autre géométrie du module de sang, appelée modèle IV, illustrée figure 2.7. Le module de gaz reste toujours le même que celui de modèle II et III. Cette nouvelle géométrie du module de sang présente une arborescence d'entrée originale distribuant le sang dans 160 capillaires d'une largeur de $400\ \mu\text{m}$ (deux fois plus larges que les capillaires sanguins du modèle III). La surface d'échange est un peu plus petite que celle du modèle III avec une valeur de $9,66\ \text{cm}^2$.

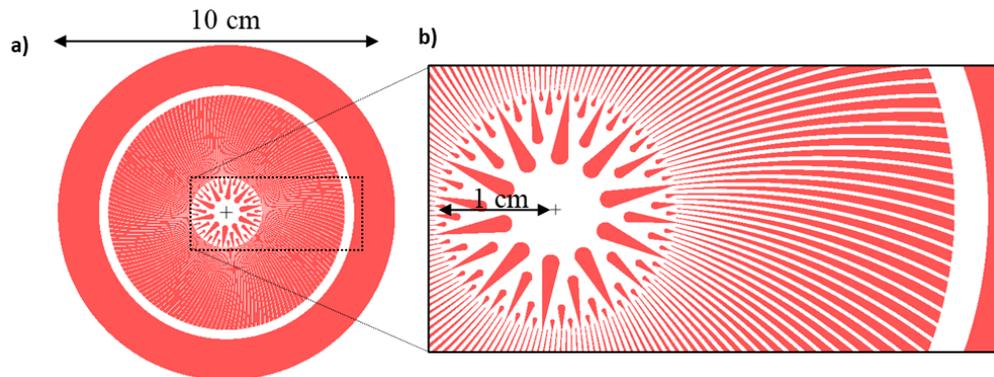


Figure 2.7. Vue de dessus de la géométrie du module de sang de la géométrie « modèle IV », avec (a) une vue générale et (b) un zoom sur la partie centrale de l'arborescence d'entrée et une partie des capillaires sanguins. La largeur des capillaires sanguin est de $400\ \mu\text{m}$. Le sang circule dans les zones blanches du dessin.

Cette dernière géométrie a été conçue pour minimiser la contrainte de cisaillement dans l'injecteur central et favoriser le dépôt des cellules endothéliales.

Nous souhaitons comparer cette géométrie modèle IV avec celle du modèle III lors d'une expérience d'endothélialisation. Par faute de temps, seule la géométrie du modèle III a pu être testée pour l'endothélialisation (partie III du chapitre 4). La géométrie du modèle IV a tout de même été utilisée pour des tests d'oxygénation et de retrait du CO_2 , notamment pour vérifier l'influence de la surface d'échange sur l'échange de gaz (partie I.2.4 du chapitre 4).

En conclusion, l'annexe 1 présente le nombre total de dispositif tri-couches de chaque modèle fabriqué au cours de ce doctorat.

II – Lois d'écoulement microfluidique

II.1 – Propriétés rhéologiques du sang

Avant de s'intéresser à l'écoulement sanguin dans des microcanaux, il convient de décrire globalement les propriétés rhéologiques du sang.

Rappelons d'abord la définition de la viscosité dynamique d'un fluide η qui joue un rôle essentiel en rhéologie. Elle est définie par le rapport entre la contrainte de cisaillement τ et le taux de cisaillement $\dot{\gamma}$, comme on peut le voir sur l'équation ci-dessous [28] :

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad (\text{eq. 2.1})$$

η est une grandeur physique qui caractérise la résistance à l'écoulement laminaire d'un fluide incompressible. Les fluides newtoniens ont une viscosité dynamique qui est indépendante du taux de cisaillement et du temps, c'est-à-dire que leur viscosité reste constante quel que soit la contrainte appliquée et le temps d'application de la contrainte. La viscosité d'un fluide newtonien est cependant dépendante de la température. A contrario, les fluides non-newtoniens ont une viscosité dépendante du taux de cisaillement et/ou du temps. Parmi les fluides non-newtoniens, on distingue deux types de fluides : les fluides rhéofluidifiants et rhéoépaississants. Les fluides rhéofluidifiants ont une viscosité qui diminue lorsque le taux de cisaillement augmente. Au contraire, les fluides rhéoépaississants ont une viscosité qui s'élève lorsque le taux de cisaillement augmente.

Le sang est un fluide complexe composé d'une phase liquide, le plasma, et de cellules en suspensions. Les cellules contenues dans le sang sont essentiellement des érythrocytes (appelés aussi hématies ou globules rouges) ; mais également des leucocytes (appelés aussi globules blancs), et des plaquettes [26]. Nous nous concentrons ici sur les globules rouges, car ce sont les seules cellules qui influencent de manière significative les propriétés mécaniques et rhéologiques du sang. En effet, la concentration des globules rouges est très élevée (environ 5 millions par mm^3 de sang) par rapport aux globules blancs et aux plaquettes [26]. À titre de comparaison, il y a environ 1 à 2 globules blancs pour des milliers de globules rouges. Les plaquettes sont plus nombreuses que les globules blancs (entre 50 et 100 pour 1000 globules rouges) mais elles ont un effet négligeable sur la mécanique du sang, car leur volume est très petit, environ un dixième de celui d'un globule rouge [26].

Un globule rouge a une forme de disque biconcave comme représenté sur la figure 2.8. Son diamètre est approximativement de $8 \mu\text{m}$ et son épaisseur est d'environ $2 \mu\text{m}$ à la périphérie du disque et $1 \mu\text{m}$ au centre. Les globules rouges sont très déformables et peuvent circuler dans des capillaires d'un diamètre de $3 \mu\text{m}$ et d'une longueur de $12 \mu\text{m}$ sans rupture [26].

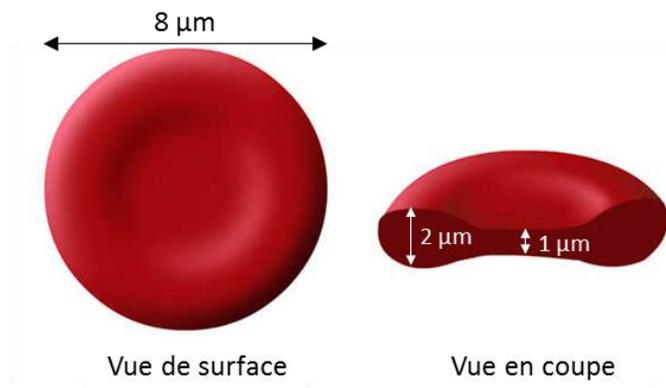


Figure 2.8. Dimensions et aspect d'un globule rouge [61].

L'hématocrite (Hct) est par définition une grandeur donnant la proportion volumique de globules rouges présents dans le sang. Chez un adulte en bonne santé, l'hématocrite varie entre 36 et 46% pour une femme et entre 40 et 50% pour un homme [27]. Chez un cochon, celle-ci varie entre 29,5 et 40% [38]. Il convient de mentionner que nous nous intéressons particulièrement aux paramètres du sang de cochon car c'est avec du sang de cochon que nous réalisons les tests d'oxygénation et de retrait du CO₂, présentés au chapitre 4.

La viscosité apparente du sang, en régime d'écoulement stationnaire, est fonction de l'hématocrite, du taux de cisaillement et de la température [27,28].

En effet, pour un taux d'hématocrite fixe, à faible taux de cisaillement, de nombreux agrégats se créent par empilement de globules rouges pour former des rouleaux. La formation d'agrégats augmente significativement la viscosité du sang. Ce phénomène est réversible, et les agrégats sont détruits au fur et mesure que le taux de cisaillement augmente. **Par définition, le sang est donc un fluide non-newtonien au caractère rhéofluidifiant** [27,28].

A fort taux de cisaillement, il n'y a plus d'agrégats et les globules rouges changent de forme jusqu'à devenir des ellipsoïdes plats orientés selon les lignes de courant [27,28].

La figure 2.9 montre la variation de la viscosité dynamique du sang pour un taux d'hématocrite fixe de 40% en fonction du taux de cisaillement [28, 29]. A fort taux de cisaillement, le comportement non-newtonien du sang devient quasiment insignifiant. **A partir d'un taux de cisaillement d'environ 100 s⁻¹, on peut considérer que le sang à un caractère newtonien avec une valeur de viscosité qui s'approche d'une valeur asymptotique** [26].

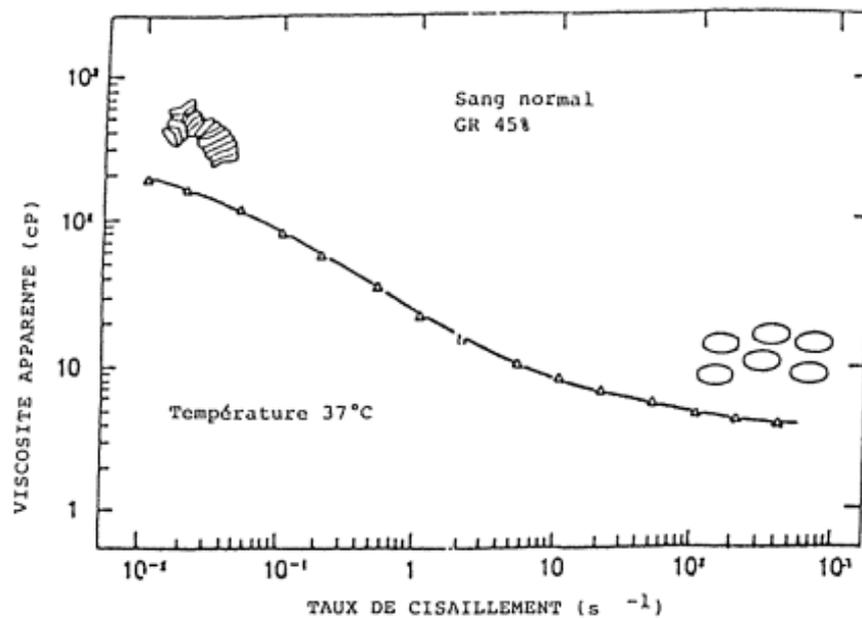


Figure 2.9. Représentation de la viscosité dynamique du sang en fonction du taux de cisaillement pour un taux d'hématocrite moyen de 40%. La figure montre l'agrégation des globules rouges à faible taux de cisaillement et la séparation des agrégats à fort taux de cisaillement (d'après Chien et coll. [29]).

A fort taux de cisaillement, supérieur à 100 s^{-1} , la viscosité relative du sang est indépendante de la température entre 23°C et 37°C [30]. En revanche, la viscosité du sang est toujours dépendante de l'hématocrite Hct . Sur une plage d'hématocrite comprise entre 0 et 50%, l'équation ci-dessous établit la relation entre la viscosité η (en cP) et l'hématocrite Hct (en %) [31].

$$\eta = \eta_p (1 + 0,025 Hct + (7,35 \times 10^{-4})Hct^2) \quad (\text{eq. 2.2})$$

Où η_p est la viscosité du plasma sanguin ($\eta_p = 1,58 \text{ cP}$ pour un cochon en conditions normales [38]).

II.2 – Lois d'écoulement de flux dans des microcanaux fluidiques

Dans cette partie, nous discuterons des caractéristiques fluidiques dans des microcanaux. A l'échelle micrométrique, les fluides ne se comportent pas de la même manière qu'à l'échelle macroscopique. Par exemple, les forces de gravité deviennent négligeables devant les forces capillaires ou visqueuses s'exerçant sur un fluide [32].

Il est important de noter que dans notre dispositif nous attendons un taux de cisaillement supérieur à 100 s^{-1} (voir partie II.3.3 de ce chapitre et annexe 4), nous pouvons donc considérer le sang comme un fluide newtonien dans la suite de cette étude.

L'équation de Navier-Stokes définit le comportement de l'écoulement d'un fluide visqueux newtonien et incompressible (équation 2.3) [32-34].

$$\underbrace{\rho \frac{\partial \vec{v}}{\partial t}}_{\text{terme inertiel}} + \underbrace{\rho \vec{v} \vec{\nabla} \vec{v}}_{\text{terme convectif}} = \underbrace{\rho \vec{g}}_{\text{pesanteur}} - \underbrace{\vec{\nabla} P}_{\text{pression}} + \underbrace{\eta \Delta \vec{v}}_{\text{viscosité}} \quad (\text{eq. 2.3})$$

Où v est la vitesse du fluide (en m.s^{-1}), ρ est la masse volumique du fluide (en kg.m^{-3}), g est l'accélération de la gravité, P est la pression (en Pa) et η est la viscosité dynamique du fluide (en Pa.s). Les termes à droite de l'équation correspondent aux forces de pesanteur, de viscosité et de pression. Les termes de convection à gauche de l'équation sont non linéaires, ce qui va jouer sur la nature de l'écoulement suivant l'importance de ce terme.

Le nombre de Reynolds (équation 2.4) est un nombre adimensionné permettant de caractériser le régime d'un écoulement. Il permet de quantifier l'importance relative des forces convectives par rapport aux forces de viscosité et il fixe les limites d'application des modèles d'écoulement laminaire et turbulent.

$$Re = \frac{\rho v l}{\eta} \quad (\text{eq. 2.4})$$

Où l est la dimension caractéristique de l'écoulement (en m).

Nous pouvons définir deux régimes d'écoulement en fonction de la valeur du nombre de Reynolds : on parle d'écoulement turbulent si $Re > 2000$, avec des forces d'inertie très importantes qui induisent des instabilités menant à la turbulence, tandis qu'on parle d'écoulement laminaire si $Re < 2000$. Dans les dispositifs microfluidiques, le nombre de Reynolds est généralement compris entre 10^{-4} et 1 [32,34]. **Dans le cas de notre oxygénateur, le nombre de Reynolds est compris entre $8,331 \times 10^{-2}$ et 1,25 suivant le débit sanguin appliqué et la hauteur des capillaires sanguins (voir partie II.3.3 de ce chapitre et annexe 3). Le régime fluidique est donc laminaire.** Cela signifie qu'en l'absence d'obstacles ou de forces extérieures, les particules suivent des trajectoires parallèles, dans la direction de l'écoulement du fluide. Le terme convectif peut donc être négligé. De plus, si l'écoulement peut être suffisamment contrôlé pour être stationnaire, le terme inertiel peut être lui aussi négligé. Enfin, à cette petite échelle, le terme exprimant les forces de gravité est aussi négligeable devant les forces importantes de viscosité. L'équation 2.3 prend alors une forme particulièrement simple, connue sous le nom d'équation de Stokes :

$$\vec{\nabla} P = \eta \Delta \vec{v} \quad (\text{eq. 2.5})$$

Lorsque l'écoulement laminaire d'un fluide incompressible se fait entre deux plaques parallèles sous l'effet d'un gradient de pression uniforme, on dit qu'il s'agit d'un « écoulement de Poiseuille ». La résolution de l'équation de Stokes montre que la vitesse d'écoulement a un profil parabolique (voir figure 2.10). Le champ de vitesse n'est pas uniforme : la vitesse est nulle sur les parois et maximale au centre.

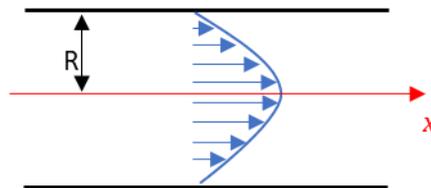


Figure 2.10. Profil parabolique de la vitesse (flèches bleues) dans un canal cylindrique lors de l'écoulement de Poiseuille.

II.3 – Estimation de la chute de pression

II.3.1 – Résistance fluidique et chute de pression dans un microcanal rectangulaire

Concernant les canaux de forme rectangulaire (hauteur H et largeur W), la section du canal a une influence sur l'écoulement du fluide. En effet, plus la section est petite, plus l'écoulement est difficile. La résistance à l'intérieur du canal, qui représente l'opposition à l'écoulement, peut être définie par la résistance hydraulique R_h [34]. D'après la loi d'Hagen-Poiseuille, la résistance hydraulique R_h (en $\text{Pa}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-3}$) correspond au rapport entre la chute de pression (ou perte de charge) ΔP (en Pa) le long de la longueur du canal, et le débit du fluide Q (en $\text{m}^3\cdot\text{s}^{-1}$) :

$$R_h = \frac{\Delta P}{Q} \quad (\text{eq. 2.6})$$

La résistance hydraulique R_h est proportionnelle à la viscosité du fluide et à la longueur du canal L , et elle est inversement proportionnelle à la section du canal. Pour un canal rectangulaire dont la hauteur est au moins 2 fois plus petite que la largeur, la résistance hydraulique R_h peut s'écrire de la manière suivante [34] :

$$R_h = \frac{12\eta L}{1 - 0,63 \left(\frac{H}{W}\right)} \frac{1}{WH^3} \quad (\text{eq. 2.7})$$

Où η est la viscosité dynamique du fluide (en $\text{Pa}\cdot\text{s}$), L est la longueur du canal (en m), H est la hauteur du canal (en m) et W est la largeur du canal (en m).

La chute de pression dans un microcanal rectiligne et rectangulaire peut donc s'écrire comme suit :

$$\Delta P = Q \frac{12\eta L}{1 - 0,63 \left(\frac{H}{W}\right)} \frac{1}{WH^3} \quad (\text{eq. 2.8})$$

La chute de pression dans les capillaires sanguins dépend de :

- *La viscosité dynamique du fluide η .*
- *La section du canal (hauteur H et largeur W) : plus la section est petite plus la chute de pression est importante. A noter que la plus grande partie de la résistance provient de la hauteur H qui est au moins deux fois plus petite que la largeur W dans un micro-canal rectangulaire.*
- *La longueur du canal L : plus elle est grande, plus la chute de pression est importante.*
- *Le débit du fluide Q : plus le débit est élevé, plus les forces de frottements sont grandes.*

Comme les dimensions des canaux sont petites du fait de l'échelle micrométrique, la chute de pression est en général importante en microfluidique. **Dans le cas de notre oxygénateur microfluidique, il faut trouver un compromis entre la dimension des capillaires sanguins et le débit sanguin afin de réduire au maximum la chute de pression dans le dispositif.**

II.3.2 – Les conditions imposées par le corps humain

La circulation sanguine dans le corps humain, illustrée dans la figure 2.11, est divisée entre la circulation systémique et la circulation pulmonaire. La circulation pulmonaire achemine le sang entre le cœur et les poumons. Elle transporte le sang non-oxygéné vers les poumons afin d'y absorber l'oxygène et d'y relarguer le dioxyde de carbone. Le sang oxygéné revient ensuite au cœur. La circulation systémique achemine le sang entre le cœur et le reste de corps. Elle transporte le sang oxygéné en direction de tous les tissus du corps humain pour fournir l'oxygène aux cellules, et réachemine le sang non-oxygéné vers le cœur [35].

Selon l'application, notre oxygénateur peut être relié au corps humain de deux façons différentes : soit par une connexion artérioveineuse sur la circulation systémique ; ou en parallèle des poumons naturels sur la circulation pulmonaire [35,36]. Suivant la connexion choisie, la chute de pression requise (et donc la résistance hydraulique) peut varier.

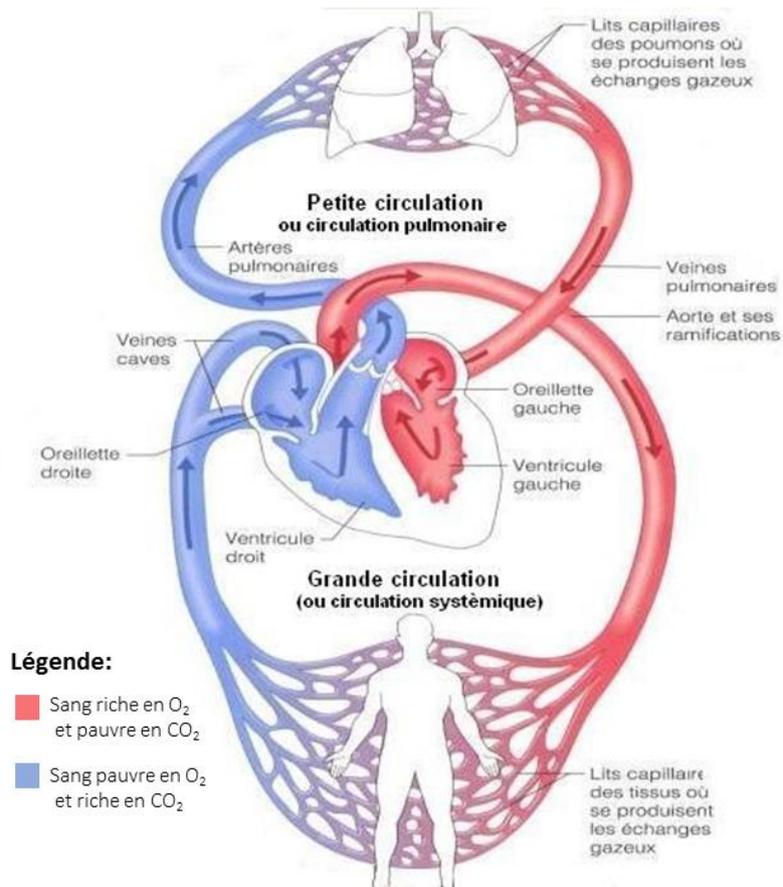


Figure 2.11. Schéma simplifié représentant la circulation sanguine dans le corps humain [37].

La figure 2.12 donne un aperçu des pressions sanguines dans les différents vaisseaux du système circulatoire [36]. La circulation systémique est présentée à gauche de la figure 2.12. Le cœur pompe continuellement le sang dans l'aorte avec une pression moyenne d'environ 100 mmHg. Comme le pompage cardiaque est pulsatile, la pression artérielle alterne entre un niveau de pression systolique d'environ 120 mmHg et un niveau de pression diastolique d'environ 80 mmHg. À mesure que le sang évolue dans le circuit systémique, sa pression moyenne chute progressivement à environ 0 mmHg au moment où il atteint la terminaison de la veine cave où il se vide dans l'oreillette droite du cœur. Par conséquent, la chute de pression entre les artères et les veines systémiques est d'environ 100 mmHg [36]. A droite de la figure 2.12, sont rapportés les pressions sanguines dans la circulation pulmonaire. Dans les artères pulmonaires, la pression est pulsatile, tout comme dans l'aorte, mais la pression est beaucoup moins importante. La pression systolique est d'environ 25 mmHg et la pression diastolique d'environ 8 mmHg, avec une pression artérielle pulmonaire moyenne d'environ 16 mmHg. La moyenne de la pression dans les capillaires pulmonaires, quant à elle, n'est que de 7 mmHg. La chute de pression entre les artères et les capillaires pulmonaires est donc à peine de 10 mmHg [36].

Au regard des chutes de pressions dans le système circulatoire humain, on peut déduire approximativement deux valeurs minimales et maximales de fonctionnement d'un oxygénateur, respectivement de 10 et 100 mmHg. Par ailleurs, la chute de pression requise pour une connexion en parallèle avec les poumons naturels sur la circulation pulmonaire (≈ 10 mmHg) est trop faible pour un dispositif microfluidique. Le dispositif sera plutôt connecté sur la circulation systémique entre l'aorte et la veine cave.

La chute de pression requise dans notre dispositif devra être inférieure à 100 mmHg.

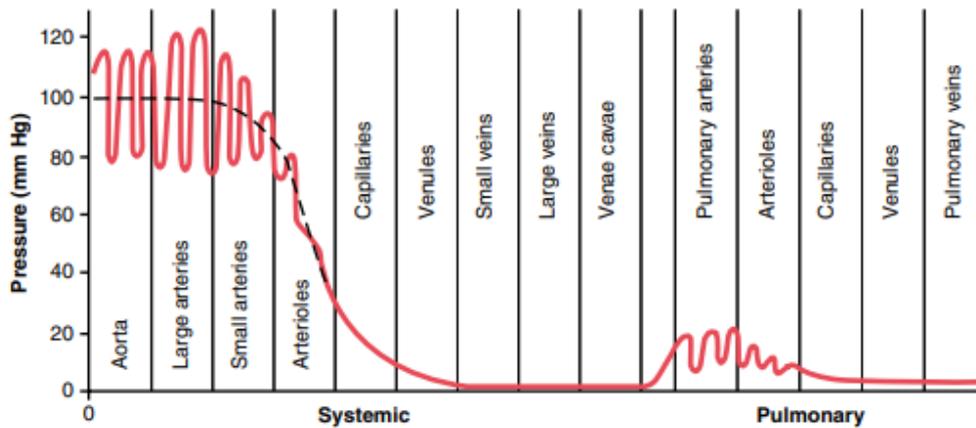


Figure 2.12. Evolution des pressions sanguines dans les différents vaisseaux du corps humain [35].

II.3.3 – Calculs numériques de la chute de pression

Comme évoqué précédemment, la chute de pression dans le dispositif est principalement influencée par la viscosité dynamique du fluide η , les dimensions des capillaires sanguins (hauteur H , largeur W et longueur L) et le débit sanguin Q .

Nous avons réalisé des calculs numériques afin d'estimer la chute de pression, en faisant varier la hauteur et la longueur des capillaires, ainsi que le débit sanguin. Dans nos calculs, la largeur des capillaires est fixe et égale à $200 \mu\text{m}$. Ces calculs ont pour but de déterminer les dimensions adéquates (hauteur H et longueur L) des capillaires sanguins, ainsi que le débit sanguin maximal pour obtenir une chute de pression inférieure à 100 mmHg.

Comme expliqué au chapitre 1, un compromis doit être trouvé pour la dimension des capillaires (H et L) qui conduira à une chute de pression raisonnable à haut débit sanguin. Il faudra donc augmenter suffisamment la hauteur des capillaires pour minimiser la chute de pression, tout en gardant une hauteur H compatible avec un bon transfert de gaz. Dans cette partie, nous discuterons uniquement de la chute de pression. La capacité à oxygéner et retirer le dioxyde de carbone, sera discutée dans la section suivante.

En utilisant les équations 2.7 et 2.8 nous avons calculé la résistance hydraulique puis la chute de pression du dispositif composé de la géométrie du modèle III. Comme expliqué dans la description du modèle III (partie I.3 de ce chapitre), une arborescence d'entrée composée de cinq niveaux de canaux d'injection, de largeur et de longueur décroissantes, garantit une distribution uniforme du flux sanguin à l'intérieur des 256 capillaires d'une largeur de 200 μm et d'une longueur de 3,5 cm. La figure 2.13 montre la répartition des 5 niveaux de l'arborescence d'entrée. Le niveau 6 correspond aux capillaires sanguins. Les largeurs W et les longueurs L des cinq niveaux de branches dans l'arborescence d'entrée sont indiquées ci-dessous :

- Niveau 1 : W_1 : 1535 μm et L_1 : 3850 μm (8 branches)
- Niveau 2 : W_2 : 921 μm et L_2 : 2450 μm (16 branches)
- Niveau 3 : W_3 : 453 μm et L_3 : 900 μm (32 branches)
- Niveau 4 : W_4 : 316 μm et L_4 : 500 μm (64 branches)
- Niveau 5 : W_5 : 200 μm et L_5 : 200 μm (128 branches)

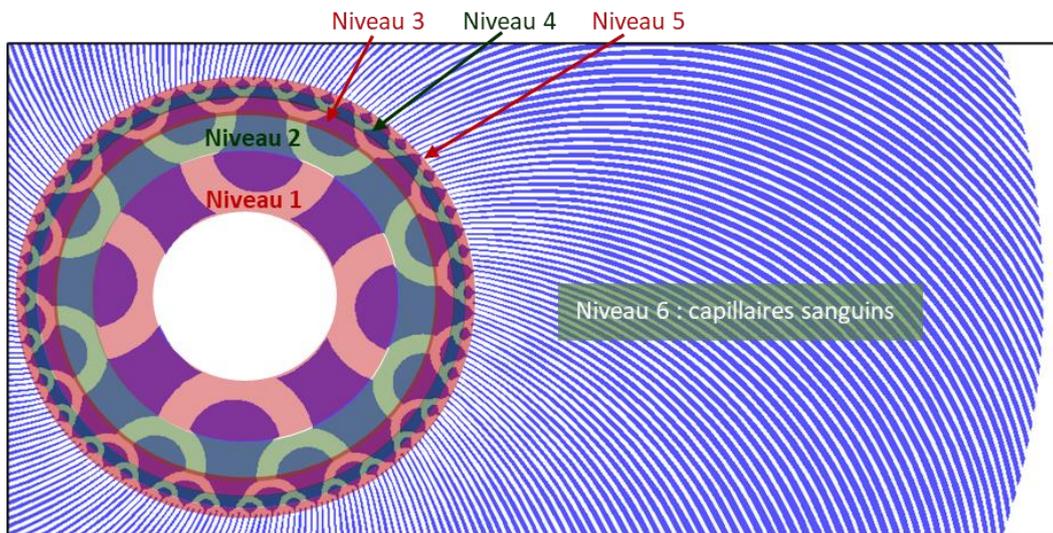


Figure 2.13. Représentation des 6 niveaux de largeur et de longueur différentes dans la géométrie du modèle III pour le calcul de la résistance hydraulique.

Lorsque deux (ou plusieurs) canaux de différentes largeurs se connectent en série (voir figure 2.14), la résistance hydraulique résultante est égale à la somme des résistances hydrauliques des canaux, sous la condition que le nombre de Reynolds reste petit et que l'on néglige la perte de charge liée au changement brutal de la largeur des canaux à leur intersection [34] :

$$R_h = R_{h1} + R_{h2} \quad (\text{eq. 2.9})$$

Étant donné que le débit dans tous les canaux connectés en série est constant ($Q = Q_1 = Q_2$) et que la pression totale est égale à la somme des pressions dans les différents canaux, la loi d'Hagen–Poiseuille s'écrit alors :

$$\Delta P = (R_{h1} + R_{h1}) Q \quad (\text{eq. 2.10})$$

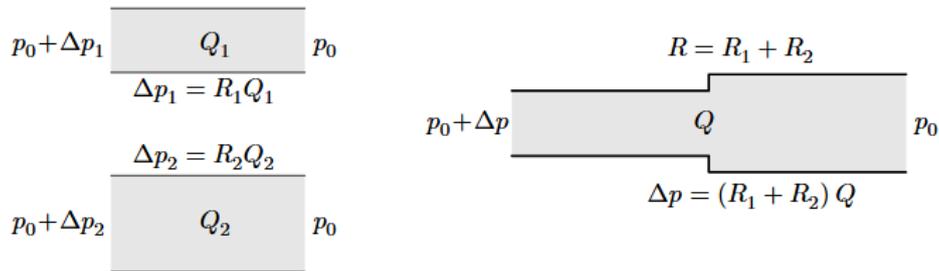


Figure 2.14. Couplage en série de deux canaux de résistance hydraulique R_{h1} et R_{h2} . La loi d'additivité des résistances hydrauliques est valable dans la limite des nombres de Reynolds faibles [34].

Dans le cas où les canaux se connectent en parallèles (voir figure 2.15), la résistance hydraulique résultante s'écrit, toujours sous la condition de faible nombre de Reynolds :

$$R_h = \left(\frac{1}{R_{h1}} + \frac{1}{R_{h2}} \right)^{-1} \quad (\text{eq. 2.11})$$

Dans ce cas, la différence de pression est constante et le débit total est égal à la somme des débits de tous les canaux.

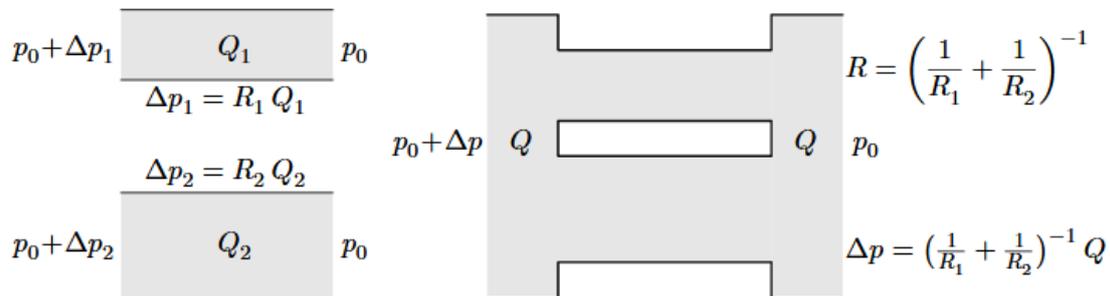


Figure 2.15. Couplage en parallèle de deux canaux de résistance hydraulique R_{h1} et R_{h2} . La loi d'additivité des inverses des résistances hydrauliques est valable dans la limite des nombres de Reynolds faibles [34].

La résistance hydraulique totale du dispositif a été calculée en additionnant les résistances hydrauliques des 6 niveaux. La méthode de calcul est décrite en détail dans l'annexe 2.

Les constantes ainsi que les valeurs des paramètres étudiés pour les calculs numériques sont indiquées dans le tableau 2.1. Les plages de valeurs des paramètres étudiés sont représentées en gras dans le tableau. En utilisant l'équation 2.2, la viscosité du sang de cochon η est estimée à 4,14 cP (0,00414 Pa.s). Les valeurs moyennes théoriques utilisées pour la viscosité du plasma sanguin du cochon η_p et l'hématocrite Hct sont respectivement 1,58 cP et 33 % [38].

D'autre part, il faut mentionner que le nombre de Reynolds Re et le taux de cisaillement ont été calculés en fonction des différentes valeurs de la hauteur H et du débit sanguin Q présentées dans le tableau ci-dessus (voir annexe 3 et 4). Il en ressort un nombre de Reynolds Re compris entre $8,331 \times 10^{-2}$ et 1,25. Le régime sanguin est donc laminaire. Le taux de cisaillement, quant à lui, est compris entre 107,16 et $23915,81 \text{ s}^{-1}$. On peut donc considérer le sang comme un fluide newtonien.

Paramètres	Symboles	Unités	Valeurs
<i>Hauteur des capillaires sanguins</i>	H	μm	35 - 85 - 105 - 135
<i>Longueur des capillaires sanguins</i>	L	cm	2,5 - 3,5 - 4,5 - 5,5
<i>Largeur des capillaires sanguins</i>	W	μm	200
<i>Débit sanguin</i>	Q	ml/min	1 - 5 - 10 - 15
<i>Température</i>	T	$^{\circ}\text{C}$	23
<i>Hématocrite</i>	Hct	%	33 [38]
<i>Viscosité dynamique du plasma sanguin du cochon</i>	η_p	cP	1,58 [38]

Tableau 2.1. Paramètres utilisés pour les calculs numériques de la chute de pression dans le dispositif. Les plages de valeurs des paramètres étudiés sont représentées en gras dans le tableau.

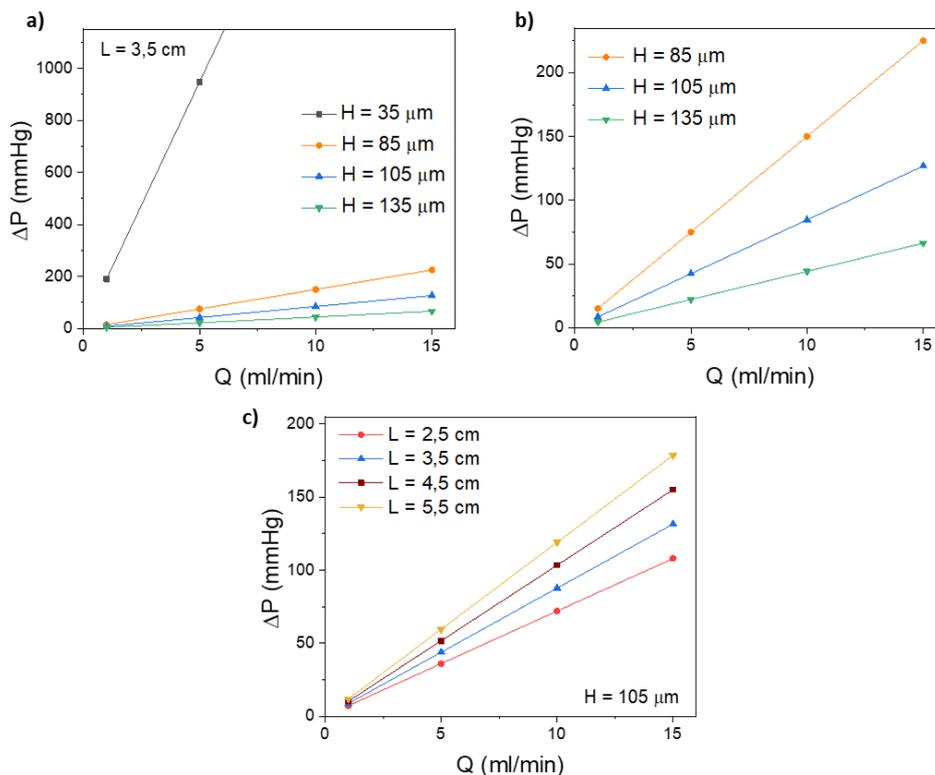


Figure 2.16. Variation de la chute de pression ΔP calculée dans le dispositif en fonction du débit sanguin Q , pour 4 hauteurs de capillaires : 35, 85, 105 et $135 \mu\text{m}$ (a), suivi d'un zoom pour $H = 85, 105$ et $135 \mu\text{m}$ (b) et pour 4 longueurs de capillaires : 2,5 ; 3,5 ; 4,5 et 5,5 cm (c).

Sur la figure 2.16. (a), la chute de pression est représentée en fonction du débit sanguin pour 4 hauteurs de capillaires : 35, 85, 105 et 135 μm (pour une longueur des capillaires fixe de 3,5 cm). Nous observons tout d'abord, de manière évidente, que la chute de pression augmente en fonction du débit sanguin et de la hauteur des capillaires. La hauteur joue un rôle particulièrement important sur la chute de pression et on remarque que pour une hauteur de 35 μm , la chute de pression s'élève très rapidement et dépasse déjà les 100 mmHg pour le plus faible débit sanguin de 1 ml/min. Puisque pour augmenter le taux de transfert de gaz des oxygénateurs microfluidiques il faut travailler à haut débit sanguin, **cette hauteur $H = 35 \mu\text{m}$ n'est donc pas envisageable pour notre dispositif.**

Pour une meilleure lisibilité de la chute de pression pour les hauteurs de capillaires de 85, 105 et 135 μm , un agrandissement de la figure 2.16. (a), pour toutes les hauteurs sauf celle de 35 μm , est exposée dans la figure 2.16. (b). Les débits sanguins maximums pour obtenir ΔP inférieure à 100 mmHg sont : 5 ml/min pour une hauteur de 85 μm , 10 ml/min pour les hauteurs de 105 μm et jusqu'à 15 ml/min pour une hauteur de 135 μm .

La figure 2.16. c) présente ΔP en fonction du débit sanguin Q pour 4 longueurs de capillaires : 2,5 ; 3,5 ; 4,5 et 5,5 cm (pour $H = 105 \mu\text{m}$). A noter que dans la géométrie du modèle III, la longueur des capillaires sanguins est fixe pour une valeur de 3,5 cm. Cependant ces calculs numériques nous permettent de comprendre à quel point la longueur des capillaires influe sur la chute de pression. D'autre part, ces calculs numériques pourront servir si l'on souhaite agrandir le dispositif en surface, et donc augmenter la longueur des capillaires.

Pour une longueur de capillaires de 2,5 cm, la chute de pression est inférieure à 100 mmHg jusqu'à 10 ml/min et légèrement supérieure à 100 mmHg pour un débit sanguin de 15 ml/min (108 mmHg). Pour les longueurs de 3,5 et 4,5 cm, le débit maximal est 10 ml/min et pour la longueur de 5,5 cm, le débit maximal est d'environ 8 ml/min pour respecter les conditions de chute de pression. D'autre part on constate que la hauteur des capillaires est bien plus influente que la longueur des capillaires sur la chute de pression.

Pendant les tests d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone présentés chapitre 4, la chute de pression était mesurée grâce à un capteur de pression placé en amont du dispositif. Une comparaison entre les valeurs théoriques, présentées ici, et les valeurs expérimentales est exposée partie II.2.2 du chapitre 4.

En conclusion, nous notons ici que la hauteur des capillaires sanguins H devra être supérieure ou égale à 105 μm et sa longueur L ne devra pas dépasser 4,5 cm pour obtenir un débit de sang de 10 ml/min et respecter la règle $\Delta P < 100\text{mmHg}$ imposée par les médecins.

III – L'échange de gaz dans un oxygénateur microfluidique

III.1 – La physique d'échange de gaz à travers une membrane perméable sous flux sanguin

L'oxygénateur microfluidique se compose d'une ou de plusieurs structures tri-couches empilées en parallèle et chaque structure tri-couches comporte deux modules microstructurés (un module de sang et un module de gaz), séparés par une fine membrane perméable aux gaz comme le montre la figure 2.17 (rappel de la figure 2.1). L'échange de gaz se fait par diffusion selon un gradient de pression partielle entre le sang et le gaz d'oxygénation. **Lors du processus d'échange de gaz, l'oxygène présent dans les microcanaux d'oxygénation se diffuse à travers la membrane puis se dissout dans le plasma sanguin et se lie avec l'hémoglobine des globules rouges, jusqu'à ce que l'hémoglobine soit saturée. Lorsque l'hémoglobine est saturée, l'excès d'oxygène reste dissous dans le plasma sanguin.** Le dioxyde de carbone, quant à lui, est transporté dans le sang principalement sous forme de bicarbonate, mais il peut également être trouvé sous la forme de composés carbaminés ou sous forme dissoute. Lors de l'échange de gaz, il se diffuse hors du sang, à travers la membrane, vers les microcanaux d'oxygénation. Le dioxyde de carbone est ensuite évacué du dispositif par le flux du gaz d'oxygénation. **A noter que seules les parties dissoutes des gaz participent à la pression partielle.** La répartition des pressions partielles en oxygène (PO_2) et en dioxyde de carbone (PCO_2) dans le sang est illustrée schématiquement figure 2.18.

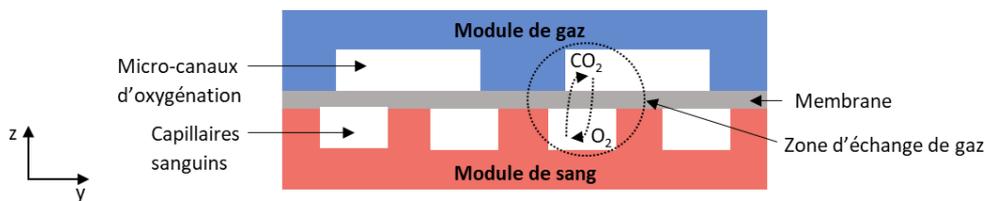


Figure 2.17. Vue de profil d'une structure tri-couches de l'oxygénateur microfluidique.

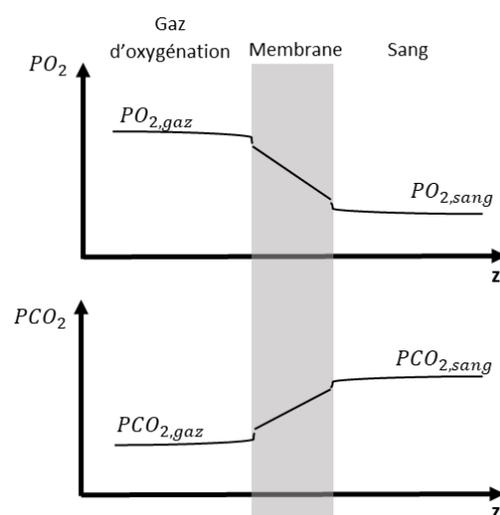


Figure 2.18. La répartition des pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone entre le gaz d'oxygénation et le sang [62].

D'après Federspiel *et coll.* [1], le taux de transfert de gaz $\frac{\Delta V}{\Delta t}$ dans un oxygénateur, défini dans l'équation 2.12, dépend de la surface de la membrane pour l'échange de gaz, S_A ; de la différence de pression partielle entre le gaz d'oxygénation et le sang, $P_{gaz} - P_{sang}$; et de la résistance totale à la diffusion R_{tot} .

$$\frac{\Delta V}{\Delta t} = \frac{S_A (P_{gaz} - P_{sang})}{R_{tot}} \quad (eq. 2.12)$$

Le taux de transfert de gaz est gouverné par les résistances de diffusion, premièrement à travers le gaz circulant dans les microcanaux d'oxygénation, puis à travers la membrane et enfin à travers le flux sanguin circulant dans les capillaires. On considère ici que la résistance à la diffusion à travers le gaz dans les microcanaux d'oxygénation est négligeable, comparée aux résistances de diffusion à travers la membrane et à travers le flux sanguin [1]. La résistance à travers le flux sanguin est principalement dû à la formation d'une couche limite à proximité de la paroi, là où la vitesse de sang est très faible par rapport au centre du microcanal. La plus grande partie de la résistance à la diffusion réside dans cette couche limite de sang, et à moindre échelle à travers la membrane elle-même. La résistance totale R_{tot} dans le dispositif peut donc s'exprimer comme l'addition de la résistance à travers la membrane, $R_{membrane}$ et de la résistance à travers la couche limite de sang R_{sang} .

$$R_{tot} = R_{membrane} + R_{sang} \quad (eq. 2.13)$$

Afin d'augmenter le taux de transfert de gaz, il convient d'établir des résistances individuelles les plus faibles possible. Afin de comprendre les mécanismes qui régissent l'échange de gaz, la diffusion à travers la membrane, puis à travers la couche limite de sang est expliquée succinctement dans les deux paragraphes suivants.

III.1.1 – La diffusion à travers la membrane

Ici nous décrivons comment se calcule la résistance à travers la membrane, désignée $R_{membrane}$.

Dans une structure tri-couches, la membrane permet de séparer les microcanaux d'oxygénation et les capillaires sanguin. Pour oxygéner le sang et relarguer le dioxyde de carbone, les deux gaz doivent pénétrer à travers la membrane. Dans ce chapitre, seules les membranes denses sont considérées (et non les membranes poreuses avec des pores traversants). Les membranes en polymère, comme le PDMS, sont supposées être bien adaptées pour notre application grâce à leur haute perméabilité aux gaz, grâce à l'existence de pores internes (non traversants).

Avant de développer les différents paramètres qui influencent la diffusion d'un gaz dans une membrane dense en polymère, il est admis que la diffusion soit restreinte à une seule direction. Cette simplification est valide quand l'épaisseur de la membrane considérée est beaucoup plus petite que la surface de la membrane.

La première loi de Fick établit qu'en présence d'un gradient de concentration entre les deux côtés d'une membrane, il apparaît un flux diffusif de matière à travers une surface perpendiculaire à la direction de l'écoulement, qui s'effectue dans le sens de la concentration la plus élevée vers la concentration la plus faible [39-41].

$$J_i = -D_i \frac{\partial C_i}{\partial x} \quad (\text{eq. 2.14})$$

Où J_i est le flux de diffusion par unité de surface ; D_i est le coefficient de diffusion dans la membrane ; $\frac{\partial C_i}{\partial x}$ est le gradient de concentration entre les deux côtés de la membrane sur la longueur x ; C_i est la concentration de gaz à la pression P ; et ∂x est l'épaisseur de la membrane.

Le transport de gaz à travers une membrane en polymère dense peut donc être décrit par un mécanisme de solution-diffusion [39,40]. Le transfert de gaz a lieu lorsqu'il y a un gradient de pression entre les deux côtés de la membrane. La perméabilité P_m d'une membrane dense, définie par l'équation 2.15, est proportionnelle au produit de la solubilité du gaz à travers la membrane S_i et du coefficient de diffusion du gaz à travers la membrane D_i [40].

$$P_m = S_i D_i \quad (\text{eq. 2.15})$$

La perméabilité dépend de deux facteurs : le premier est un facteur thermodynamique S qui caractérise la quantité de molécules de gaz sorbées ou dissoutes à l'intérieur de la matrice macromoléculaires. Le second est un facteur cinétique D , qui caractérise la mobilité des molécules de gaz diffusant à travers la matrice polymérique. Les deux coefficients varient en fonction de la température, de la nature du gaz et du matériau de la membrane.

Dans un système idéal, la solubilité est indépendante de la concentration et la courbe de sorption obéit à la loi de Henry, c'est-à-dire que la concentration de gaz dans la membrane en polymère C_i est proportionnelle à la pression appliquée P_i [40].

$$C_i = S_i P_i \quad (\text{eq. 2.16})$$

Lorsque les concentrations du gaz sont à l'équilibre des deux côtés de la membrane, le flux à travers la membrane est constant. Les concentrations des deux côtés de la membrane sont constantes.

$$\frac{\partial C_i}{\partial x} = 0 \quad (\text{eq. 2.17})$$

L'intégration de la 1^{ère} loi de Fick donne donc l'équation suivante 2.18 [40] :

$$J = -D \frac{C_2 - C_1}{e_m} = -DS \frac{P_2 - P_1}{e_m} = -P_m \frac{P_2 - P_1}{e_m} \quad (\text{eq. 2.18})$$

Où e_m est l'épaisseur du film, C_1 et C_2 sont les concentrations de gaz de part et d'autre de la membrane, P_2 et P_1 sont les pressions de part et d'autre de la membrane, P_m est la perméabilité de la membrane, et J est la densité du flux de diffusion dans la membrane.

La quantité de gaz qui passe à travers la membrane par unité de temps et de surface est proportionnelle à la différence de pression de part et d'autre de la membrane, et inversement proportionnelle à l'épaisseur de la membrane. Ainsi plus la perméabilité de la membrane est grande et plus l'épaisseur de la membrane est petite, plus la quantité de gaz qui traverse la membrane sera importante. La résistance à la diffusion à travers la membrane peut s'écrire comme le rapport entre l'épaisseur de la membrane e_m et la perméabilité de la membrane P_m :

$$R_{\text{membrane}} = \frac{e_m}{P_m} \quad (\text{eq. 2.19})$$

III.1.2 – La diffusion à travers la couche limite de sang

Ici nous décrivons comment se calcule la résistance à travers la couche limite de sang à proximité de la membrane R_{sang} .

Dans les microcanaux dans lesquelles circulent le sang, appelés capillaires sanguins, il s'établit un gradient de vitesse, dû au phénomène de viscosité et d'adhérence à la paroi. Au plus proche de la paroi, la vitesse du sang est nulle et plus on se rapproche du centre du canal, plus la vitesse augmente. Cela conduit à une structure dite de « couche limite », où une redistribution dans le champ de vitesse s'accompagne d'une diffusion de quantité de mouvement. Par commodité, on définit l'épaisseur de la couche limite comme la zone dans laquelle la variation de vitesse est la plus marquée [42].

La résistance à la diffusion explique le mouvement du gaz à travers les couches limites de diffusion qui existent à proximité des parois, où la vitesse du sang est réduite par les forces de trainée. Les molécules de gaz traversent la couche limite par diffusion moléculaire avant d'être exposées à une vitesse suffisante du sang pour circuler dans les capillaires sanguins. D'après Federspiel *et coll.* [1], la résistance à la diffusion à travers la couche limite de sang peut s'exprimer comme suit :

$$R_{sang} = \frac{\delta}{S_{s,gaz} D_{s,gaz}} \quad (eq. 2.20)$$

Où δ est l'épaisseur de la couche limite moyenne, et $S_{s,gaz}$ et $D_{s,gaz}$ sont respectivement les coefficients de solubilité et de diffusivité du gaz dans le sang.

La détermination exacte de l'épaisseur de la couche limite δ reste complexe, même si on sait qu'elle dépend en partie de la viscosité cinématique du fluide, de la vitesse d'écoulement et de la longueur du canal [1].

Dans le modèle mathématique de Potkay [25] utilisé pour estimer l'échange de gaz dans notre dispositif (ce modèle mathématique sera expliqué partie III.3 de ce chapitre), **nous avons estimé que l'épaisseur de la couche limite δ correspondait à la valeur de la hauteur du capillaire sanguin divisée par deux, là où la vitesse de l'écoulement est la plus grande.**

En effet cela a été admis pour deux raisons :

- Premièrement, pour les fluides homogènes dans les microcanaux, les couches limites fluidiques se développent rapidement et sont limitées par les dimensions des microcanaux.
- Deuxièmement, l'oxygène devra parcourir environ la moitié du capillaire sanguin, en moyenne, pour trouver un globule rouge et se lier à l'hémoglobine. Le dioxyde de carbone devra également parcourir environ la moitié du capillaire sanguin, en moyenne, pour aller jusqu'à la membrane, la traverser, et être évacué dans les microcanaux d'oxygénation.

III.1.3 – Les paramètres qui influencent l'échange de gaz dans le dispositif

En résumé, la résistance totale à la diffusion R_{tot} , qui combine la résistance à travers la membrane $R_{membrane}$ et la résistance à travers la couche limite de sang R_{sang} , s'exprime donc comme suit :

$$R_{tot} = R_{membrane} + R_{sang} = \frac{e_m}{P_m} + \frac{\delta}{S_{s,gaz} D_{s,gaz}} \quad (eq. 2.13bis)$$

R_{tot} dépend majoritairement de l'épaisseur de la membrane e_m , de la perméabilité aux gaz du matériau de la membrane P_m , de l'épaisseur de la couche limite de sang δ et de la solubilité et de la diffusivité du gaz dans le sang, respectivement $S_{s,gaz}$ et $D_{s,gaz}$.

Au regard de cette équation, et en utilisant les paramètres qui influencent la résistance à la diffusion, le taux de transfert de gaz dans le dispositif $\frac{\Delta V}{\Delta t}$, décrit par Federspiel *et coll.* [1], vaut donc :

$$\frac{\Delta V}{\Delta t} = \frac{S_A (P_{gaz} - P_{sang})}{R_{tot}} = \frac{S_A (P_{gaz} - P_{sang})}{\left(\frac{e_m}{P_m} + \frac{\delta}{S_{s,gaz} D_{s,gaz}}\right)} \quad (eq. 2.12bis)$$

En conclusion, le taux de transfert $\frac{\Delta V}{\Delta t}$ peut être augmenté :

- En élevant la différence de pression partielle entre le gaz d'oxygénation et le sang, $P_{gaz} - P_{sang}$.
- En agrandissant la surface de la membrane pour l'échange de gaz, S_A .
- En réduisant la résistance à la diffusion à travers la membrane, notamment en diminuant l'épaisseur de la membrane e_m et en choisissant un matériau hautement perméable à l'oxygène et au dioxyde de carbone. La perméabilité P_m du matériau de la membrane sera discutée dans la section suivante.
- En minimisant la résistance à la diffusion à travers la couche limite de sang, notamment en réduisant la hauteur des capillaires sanguin. Comme évoqué plus haut, nous avons estimé que l'épaisseur de la couche limite δ était égale à la hauteur des capillaires sanguin divisé par deux.

III.2 – Le choix du matériau de la membrane perméable aux gaz

Récemment de nombreux polymères ont été appliqués dans des dispositifs et implants biomédicaux. Polycarbonate (PC), polypropylène (PP), polyméthacrylate de méthyle (PMMA), polychlorure de vinyle (PVC), polyéthylène (PE) et poly(diméthyl-siloxane) (PDMS) sont quelques-uns des polymères les plus utilisés [2-8]. Ils ont l'avantage d'être considérés comme biocompatibles, leur prototypage est rapide et ils ont un faible coût. Le placement de ces matériaux dans le corps humain varie selon les applications spécifiques.

Le poly(diméthyl-siloxane) (PDMS) est l'élastomère siliconé le plus utilisé pour la fabrication et le prototypage de dispositifs microfluidiques destinés à des applications médicales, notamment pour la séparation des biomolécules, les immunotests, la culture cellulaire et les poumons artificiels [9-13]. Il a également été largement utilisé comme composant essentiel de dispositifs médicaux de pointe, dont les implants mammaires, les stimulateurs cardiaques, les cathéters, les dérivations, les oxygénateurs membranaires et les pompes sanguines [14-16].

Réticulé chimiquement, le PDMS se compose de liaisons Si-C et Si-O, comme montré sur la figure 2.19. L'enchaînement des liaisons siloxanes -Si-O-Si- confèrent au matériau une excellente stabilité thermique, une bonne inertie chimique et une bonne tenue au vieillissement. Les groupes méthyles latéraux confèrent une grande hydrophobie à ce polymère. L'état d'un polymère est caractérisé par la température de transition vitreuse du matériau, au-dessus de laquelle le polymère est dans son état caoutchouteux, et en dessous de laquelle il est vitreux. Le PDMS, qui a une très basse température de transition vitreuse de -123°C, a un comportement de type élastique et présente ainsi une solubilité et une perméabilité aux gaz relativement élevées comparé aux autres polymères. C'est pour cette raison qu'il est très utilisé comme membrane de diffusion dans les oxygénateurs microfluidiques actuels [17-21].

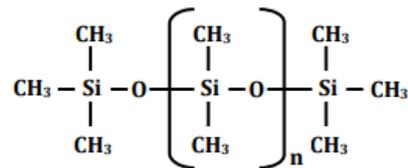


Figure 2.19. Composition chimique du polydiméthylsiloxane (PDMS). n étant le nombre de répétitions du monomère.

Le coefficient de perméabilité du matériau de la membrane (P_m) est une donnée très importante puisque cela permet de maximiser le taux de transfert de gaz dans le dispositif. Par définition, le coefficient de perméabilité est un paramètre qui quantifie le flux de gaz passant à travers la membrane soumise à un gradient de pression. Il peut être exprimé comme le produit de deux grandeurs, le coefficient de solubilité (S) et diffusion (D). Ces deux grandeurs varient principalement en fonction de la température et de la nature du gaz et du matériau de la membrane.

Ses dimensions sont :

$$P_m = \frac{\text{(volume de gaz dans les conditions standard de température et pression (STP))} \times (e_m)}{(P) \times (S_A) \times (\text{temps})}$$

Où e_m est l'épaisseur de la membrane, S_A est la surface d'échange et P est la pression.

L'unité principal est : $\text{cm}^3(\text{STP}).\text{cm}.\text{cm}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{cmHg}^{-1}$. Une autre unité souvent utilisé dans la littérature pour les membranes de diffusion des poumons artificiels est le barrer. Notons que $1 \text{ barrer} = 10^{-10} \text{ cm}^3(\text{STP}).\text{cm}.\text{cm}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{cmHg}^{-1}$.

Le tableau 2.2 ci-dessous montre une comparaison du coefficient de perméabilité à l'oxygène et au dioxyde de carbone de deux types de polymères utilisés pour des applications médicales, le PDMS et le PMMA.

Polymères	Coefficient de perméabilité (en barrer)	
	O ₂	CO ₂
PDMS [22,23]	781	4550
PMMA [24]	0,26	2,75

Tableau 2.2. Coefficient de perméabilité à l'oxygène et au dioxyde de carbone pour le PDMS et le PMMA à 25°C [22-24].

Le coefficient de perméabilité aux gaz du PDMS est particulièrement élevé en raison de la grande mobilité de ses chaînes de polymères. Pour les polymères vitreux, comme le PMMA dont la température de transition vitreuse est de 108°C, les mouvements segmentaires des chaînes sont plus restreints.

Le PDMS possède de nombreux avantages dont un coefficient de perméabilité aux gaz relativement élevé, une nature biocompatible et un protocole de fabrication simple et connu en microfluidique. Pour toutes ces raisons, le PDMS a été choisi comme matériau de membrane au sein de l'oxygénateur microfluidique.

Au début de ma thèse, j'ai aussi tenté de travailler avec d'autres matériaux polymères, comme le PMP ou le SEBS mais aucun n'avait une perméabilité supérieure à celle du PDMS. J'ai aussi tenté de travailler avec des membranes poreuses, qu'elles soient obtenues par électro-spinning (Pan+SiO₂ ou PVDF-HFD+SiO₂), ou par anodisation électrolytique (membranes nanoporeuses d'Al₂O₃ commerciales). Le problème principal avec les membranes nanoporeuses est qu'elles engendrent des fuites de liquide à travers la membrane. De plus leur surface est rugueuse, ce qui complique grandement le collage avec le matériau du module sang et de gaz (dans notre cas du PDMS). Par souci de concision, ces travaux sont résumés dans l'annexe 5.

III.3 – Le modèle mathématique proposé par Potkay

Afin de simuler l'échange de gaz dans notre dispositif, nous avons utilisé le modèle mathématique proposé par Potkay [25] en 2013. Il existe dans la littérature divers modèles mathématiques sur l'échange de gaz dans des poumons artificiels mais ils sont tous composés d'un ensemble d'équations complexes qui nécessitent l'utilisation de logiciels de calculs numériques [43-47]. **Le modèle proposé par Potkay est un modèle simple et intuitif, basé sur l'échange de gaz spécifiquement dans des microcanaux. Il convient parfaitement aux oxygénateurs microfluidiques.** Potkay utilise des paramètres regroupés et fait plusieurs hypothèses afin d'obtenir un ensemble fermé d'équations décrivant l'échange de gaz. Ce modèle est potentiellement moins précis que les méthodes de calcul, mais il nous donne un ordre de grandeur des paramètres appropriés pour un échange de gaz efficace. Il permet également de comprendre quels sont les paramètres les plus influents sur l'échange de gaz. Nous verrons plus loin dans ce mémoire qu'il permet de bien décrire cet échange de gaz.

En définitif, ce modèle nous fournit des approximations des pressions partielles en oxygène (PO_2) et en dioxyde de carbone (PCO_2) ; ainsi que des niveaux de saturation en oxygène ($SatO_2$) dans le sang en tout point du dispositif et à différents débits sanguins. $SatO_2$ peut être calculé en fonction de la PO_2 (voir partie III.3.4.5 plus loin dans le chapitre). La variation de ces trois paramètres sanguins PO_2 , PCO_2 et $SatO_2$ entre l'entrée et la sortie du dispositif, permet d'évaluer la performance d'oxygénation et de retrait du CO₂ du dispositif et permet également de calculer le taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone du dispositif (voir partie III.3.2 et III.3.3 dans ce chapitre).

Ce modèle mathématique a été vérifié par Potkay pour trois groupes de recherche indépendants [25].

III.3.1 – Les hypothèses du modèle

Un certain nombre d'hypothèses et de simplifications ont été faites afin de simplifier grandement les équations résultantes et d'obtenir un modèle relativement simple. **Bien que ces hypothèses puissent limiter la précision du modèle, elles simplifient considérablement les équations finales du modèle analytique, qui permet, comme nous le verrons au chapitre 4, d'estimer les grandeurs assez fidèlement sans avoir recours à un logiciel de calcul numérique.** D'autre part, il est important de noter que ce modèle fait quelques hypothèses qui ne sont applicables que dans des microcanaux. En effet, dans les dispositifs composés de canaux de taille macroscopique, la diffusion de l'oxygène dans le sang est influencée par le développement d'une couche limite de sang, ainsi que par des effets de mélange. Dans un dispositif composé de microcanaux où le mélange est difficile à obtenir en raison des effets à petite échelle, la couche limite de sang se développe rapidement, puis est limitée par les dimensions du canal. De ce fait, l'analyse de la diffusion dans le sang peut être considérablement simplifiée.

Les hypothèses sont les suivantes :

- 1) *Les capillaires sanguins sont rectangulaires avec une longueur L , une hauteur H , une largeur W , et une largeur totale pour tous les capillaires W_{tot} . Les capillaires sanguins sont séparés des microcanaux d'oxygénation par une membrane d'épaisseur e_m .*
- 2) *Les pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone dans les microcanaux d'oxygénation (respectivement $PO_{2,gaz}$ et $PCO_{2,gaz}$) sont constantes.* Cette hypothèse réduit considérablement la complexité de l'équation dérivée et est valide lorsque, premièrement, l'approvisionnement en O_2 et en CO_2 est beaucoup plus élevé que leurs taux d'échange respectifs, c'est-à-dire lorsque l'échange de gaz n'est pas limité (réservoir de gaz infini) ; et deuxièmement, lorsque la résistance à la diffusion dans les microcanaux d'oxygénation est négligeable par rapport à celle dans les capillaires sanguins.
- 3) *L'échange de gaz ne se produit que d'un seul côté des capillaires sanguins.*
- 4) *Le sang est un fluide homogène avec une solubilité et une diffusivité efficace pour l'oxygène et le dioxyde de carbone.* Le sang est un liquide complexe composé principalement de globules rouges et de plasma. Dans le cas de l'oxygène, la solubilité et la diffusivité de l'oxygène dans le sang sont liées aux propriétés de l'oxygène dans le plasma sanguin ainsi qu'à son absorption par l'hémoglobine, décrite par l'équation de Hill (voir partie III.3.4.5 de ce chapitre). Par exemple, à faible PO_2 et $SatO_2$, de nombreuses molécules d'hémoglobine sont disponibles pour se lier à l'oxygène, et la solubilité efficace de l'oxygène est augmentée. Inversement, dans cette situation, la diffusivité efficace est diminuée en raison de l'absorption accrue d'oxygène dans les globules rouges. Dans des travaux antérieurs sur les poumons artificiels à membrane en fibres creuses, Hewitt *et coll.* [46] ont défini une solubilité et une diffusivité efficace de l'oxygène dans le sang à une PO_2 et une $SatO_2$ donnée, qui tient compte des effets du plasma et de l'hémoglobine. Mochizuki *et coll.* [49] donne un terme similaire qui peut être défini pour le dioxyde de carbone. Dans un poumon artificiel, la solubilité et la diffusivité efficace varient à mesure que la PO_2 et la $SatO_2$ changent avec l'échange gazeux. Pour surpasser cette complication et pour simplifier le modèle, la solubilité et la diffusivité efficaces pour l'oxygène et le dioxyde de carbone sont moyennées sur une gamme appropriée des pressions partielles pour obtenir des valeurs constantes (voir la section III.3.4.2 de ce chapitre). Ainsi, bien qu'il soit supposé que le sang soit homogène, les approximations expliquent le fait qu'il soit non-homogène.

- 5) *Dans le sang, le processus de transport de gaz est limité par la diffusion de l'oxygène dans le plasma, et non par la diffusion dans les globules rouges.* Après avoir traversé la membrane, les molécules d'oxygène se dissolvent dans le flux sanguin. Une fois dans le sang, soit elles restent dissoutes dans le plasma sanguin, soit elles se diffusent dans un globule rouge, à travers sa membrane, puis se lient à l'hémoglobine. Dans ce modèle, la résistance à la diffusion de la membrane cellulaire et de la cellule elle-même sont considérées comme négligeable.
- 6) *L'épaisseur de la couche limite fluide dans le sang (δ) est égale à la moitié de la hauteur du capillaire.* Le développement des couches limites dans les fluides à composants multiples est complexe. Cette hypothèse a été faite pour simplifier l'analyse et est justifiée pour deux raisons. Tout d'abord, pour les fluides homogènes dans les microcanaux, les couches limites fluide se développent rapidement et sont limitées par les dimensions des canaux. Ainsi, l'épaisseur de la couche limite fluide (δ) peut-être estimée à la moitié de la hauteur du capillaire sanguin ($H/2$). Deuxièmement, l'oxygène devra parcourir environ la moitié de la hauteur du capillaire sanguin, en moyenne, pour trouver un globule rouge et se lier à l'hémoglobine.
- 7) *Les pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone dans le sang varient uniquement selon la longueur des capillaires sanguins, et non suivant sa hauteur ou sa largeur.* Les pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone qui circulent dans les capillaires sanguins sont des fonctions tri-dimensionnelles. Le long de la largeur du capillaire sanguin, les pressions partielles peuvent varier en raison des effets liés à l'interaction avec les parois. Cependant ces effets sont supposés secondaire. Le long de la hauteur du capillaire sanguin, les pressions partielles varient à mesure que les gaz se diffusent vers et depuis la membrane. Néanmoins, en raison de la petite hauteur des capillaires, ces variations sont présumées faibles par rapport à la variation globale des pressions partielles selon la longueur des capillaires sanguins.

III.3.2 – Le taux de transfert d’oxygène

Rappelons d’abord que lors du processus d’échange de gaz, l’oxygène présent dans les microcanaux de gaz se diffuse à travers la membrane puis se dissout dans le plasma sanguin et se lie avec l’hémoglobine des globules rouges, et ce jusqu’à ce que l’hémoglobine soit saturée. Lorsque l’hémoglobine est saturée, l’excès d’oxygène reste dissous dans le plasma sanguin. La concentration en oxygène totale dans le sang $ctO_2(S)$ correspond donc à la somme d’oxygène dissous $cO_{2,dissous}$ et d’oxygène saturé sur l’hémoglobine $cO_{2,hémo}$ [53,54] :

$$ctO_2(S) = cO_{2,dissous} + cO_{2,hémo} \quad (eq. 2.21)$$

Plus précisément cette équation peut s’écrire [53,54] :

$$ctO_2(S) = S_{O_2,plasma} \times PO_2 + ctHb(g) \times SatO_2 \times 1,39 \quad (eq. 2.22)$$

Où $ctO_2(S)$ s’écrit en ml O₂/ ml sang ; $S_{O_2,plasma}$ est la constante de solubilité de l’oxygène dans le plasma sanguin à la température considérée : 0,0000314 (en ml O₂/mmHg/ml sang) ; PO_2 est la pression partielle en oxygène (en mmHg) ; $ctHb(g)$ est la concentration totale en hémoglobine dans le sang (en g Hb/ ml sang). Pour le cochon, $ctHb(g)$ est compris entre 0,08 g/ml et 0,15 g/ml [58] avec une valeur moyenne d’environ 0,10 g/ml [57] ; $SatO_2$ est la saturation en oxygène dans le sang (sans unité) ; et 1,39 (en ml O₂ / g Hb) [54] est le pouvoir oxyphorique théorique de l’hémoglobine.

Le taux de transfert d’oxygène dans notre oxygénateur correspond à la différence de concentration en oxygène dans le sang entre l’entrée et la sortie du dispositif en un temps donné. C’est le paramètre clé que nous allons chercher à maximiser.

En s’appuyant sur les équations 2.21 et 2.22, le taux de transfert d’oxygène dans le dispositif en fonction du temps peut donc s’écrire de la manière suivante :

$$\frac{\Delta ctO_2}{\Delta t} = Q \left[S_{O_2,plasma} (PO_{2,sortie} - PO_{2,entrée}) + ctHb(g) (SatO_{2,sortie} - SatO_{2,entrée}) 1,39 \right] \quad (eq. 2.23)$$

Où $\frac{\Delta ctO_2}{\Delta t}$ en ml O₂/min et Q est le débit sanguin dans les capillaires (en ml/min).

Le taux de transfert d’oxygène permet de définir l’efficacité du dispositif en estimant la concentration d’oxygène qui a traversé la membrane pour venir oxygéner le sang en un temps donné.

Nous voyons de cette équation importante qu’il faut déterminer précisément les 4 grandeurs $PO_{2,sortie}$ et $PO_{2,entrée}$; et $SatO_{2,entrée}$ et $SatO_{2,sortie}$.

III.3.3 – Le taux de transfert de dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone est transporté par trois mécanismes majeurs [56] :

- Le premier mécanisme de transport du dioxyde de carbone est le plasma sanguin, car certaines molécules de dioxyde de carbone se dissolvent dans le sang (10%).
- Le second mécanisme est le transport sous forme de bicarbonate (HCO_3^-), qui se dissout également dans le plasma sanguin (70%).
- Le troisième mécanisme de transport du dioxyde de carbone est similaire au transport d'oxygène par les érythrocytes. Environ 20% du dioxyde de carbone est lié à l'hémoglobine et est transporté dans les poumons. Le dioxyde de carbone ne se lie pas au fer comme l'oxygène ; à la place, le dioxyde de carbone se lie aux fragments d'acides aminés sur les portions de globine de l'hémoglobine pour former la carbaminohémoglobine, qui se forme lorsque l'hémoglobine et le dioxyde de carbone se lient.

Le calcul de la concentration totale du dioxyde de carbone dans le plasma sanguin $ct\text{CO}_2(P)$ est égale à la concentration du dioxyde de carbone dissout $c\text{CO}_{2,dissous}$ additionné à la concentration du dioxyde de carbone sous forme de bicarbonate $c\text{HCO}_3(P)$ [54,55] :

$$ct\text{CO}_2(P) = c\text{CO}_{2,dissous} + c\text{HCO}_3(P) \quad (\text{eq. 2.27})$$

Avec :

$$c\text{CO}_{2,dissous} = S_{\text{CO}_2,plasma} \times P\text{CO}_2 \quad (\text{eq. 2.28})$$

$$c\text{HCO}_3(P) = S_{\text{CO}_2,plasma} \times P\text{CO}_2 \times 10^{pH-pK(P)} \quad (\text{eq. 2.29})$$

$$pK(P) = 6,125 - \log(1 + 10^{pH-8,7}) \quad (\text{eq. 2.30})$$

Où $ct\text{CO}_2(P)$ est la concentration totale en CO_2 dans le plasma sanguin (en $\text{mmol CO}_2/\text{L sang}$) ; $c\text{CO}_{2,dissous}$ est la concentration totale en CO_2 dissous dans le plasma sanguin (en mmol/L sang) ; $c\text{HCO}_3(P)$ est la concentration totale de bicarbonate dans le plasma sanguin (en $\text{mmol HCO}_3^-/\text{L sang}$) ; $S_{\text{CO}_2,plasma}$ est la constante de solubilité du dioxyde de carbone dans le plasma sanguin à la température considérée : $0,230$ (en $\text{mmol.L}^{-1}.\text{kPa}^{-1}$) ; $P\text{CO}_2$ est la pression partielle en CO_2 (en kPa) ; et $pK(P)$ est une constante liée au plasma sanguin (sans unité).

Le calcul de la concentration totale du dioxyde de carbone dans le sang $ctCO_2(S)$ est basé sur l'addition de la concentration du dioxyde de carbone dans le plasma sanguin $ctCO_2(P)$ et dans le fluide érythrocytaire (ery) [54,55] :

$$ctCO_2(S) = 9,286 \times 10^{-3} \times PCO_2 \times ctHb \times (1 + 10^{pH_{ery} - pK_{ery}}) + ctCO_2(P) \times \left(1 - \frac{ctHb}{21}\right) \quad (eq. 2.31)$$

Avec :

$$pH_{ery} = 7,19 + 0,77 (pH - 7,40) + 0,035 (1 - SatO_2) \quad (eq. 2.32)$$

$$pK_{ery} = 6,125 - \log(1 + 10^{pH_{ery} - 7,84 - 0,06 \cdot SatO_2}) \quad (eq. 2.33)$$

Où PCO_2 est la pression partielle en CO_2 (en kPa) ; $ctHb$ est la concentration totale d'hémoglobine dans le sang (en mmol Hb/L sang). Pour le cochon, $ctHb(g)$ moyen est d'environ 0,10 g/ml [57] ce qui équivaut à 6,21 mmol/L ; $SatO_2$ est la saturation de l'hémoglobine en oxygène (sans unité) ; pH_{ery} est le pH des érythrocytes (ou globules rouges) (sans unité) ; pK_{ery} est une constante liée aux érythrocytes (ou globules rouges) (sans unité).

Comme le taux de transfert d'oxygène, le taux de transfert de dioxyde de carbone dans notre oxygénateur correspond à la différence de concentration en dioxyde de carbone dans le sang entre l'entrée et la sortie du dispositif en un temps donné. C'est aussi un des paramètre clé que nous allons chercher à maximiser.

En s'appuyant sur les équations 2.27 à 2.33, le taux de transfert de dioxyde de carbone dans le dispositif en fonction du temps peut donc s'écrire de la manière suivante :

$$\frac{\Delta ctCO_2(S)}{\Delta t} = Q \left[9,286 \times 10^{-3} (PCO_{2,sortie} - PCO_{2,entrée}) \times ctHb \times (1 + 10^{pH_{ery} - pK_{ery}}) + ctCO_2(P) \left(1 - \frac{ctHb}{21}\right) \right] \quad (eq. 2.34)$$

Où $\frac{\Delta ctCO_2(S)}{\Delta t}$ est en ml CO_2 /min et Q est le débit sanguin dans les capillaires (en ml/min).

Le taux de transfert de dioxyde (en plus du taux de transfert d'oxygène) permet de définir l'efficacité du dispositif en estimant la concentration de dioxyde de carbone qui a traversé la membrane pour être expulsé du sang.

Nous voyons de cette équation importante qu'il faut déterminer précisément les 4 grandeurs $PCO_{2,sortie}$ et $PCO_{2,entrée}$; et $SatO_{2,entrée}$ et $SatO_{2,sortie}$.

Décrivons maintenant comment le modèle numérique de Potkay permet de déterminer simplement ces 6 grandeurs, qui sont la pression partielle en oxygène en entrée et en sortie du dispositif ($PO_{2,sortie}$ et $PO_{2,entrée}$), la pression partielle en dioxyde de carbone en entrée et en sortie du dispositif ($PCO_{2,sortie}$ et $PCO_{2,entrée}$), et la saturation en oxygène en entrée et en sortie du dispositif ($SatO_{2,sortie}$ et $SatO_{2,entrée}$).

III.3.4 – Les paramètres à déterminer pour résoudre les équations de Potkay

Avant de décrire le modèle de Potkay, il nous faut calculer des paramètres importants qui sont la résistance à la diffusion R_{tot} , la solubilité et la diffusivité efficace de l'oxygène (S_{s,O_2} et D_{s,O_2}) et du dioxyde de carbone (S_{s,CO_2} et D_{s,CO_2}). Ces paramètres sont décrits individuellement dans les paragraphes ci-dessous.

III.3.4.1 – La résistance à la diffusion

Comme cela a déjà été évoqué partie III.1 de ce chapitre, le taux de transfert de gaz est dictée par les résistances de diffusion, dans un premier temps à travers la membrane, puis à travers le flux sanguin dans les capillaires. La résistance totale est, conformément à l'équation 2.35 pour l'oxygène et 2.36 pour le dioxyde de carbone, la somme des résistances présentes dans la membrane et dans les capillaires sanguins [1].

$$R_{O_2,tot} = R_{O_2,membrane} + R_{O_2,sang} \quad (eq. 2.35)$$

$$R_{CO_2,tot} = R_{CO_2,membrane} + R_{CO_2,sang} \quad (eq. 2.36)$$

où $R_{O_2,membrane}$ et $R_{CO_2,membrane}$ représentent respectivement les résistances à la diffusion à travers la membrane pour l'oxygène et pour le dioxyde de carbone ; et $R_{O_2,sang}$ et $R_{CO_2,sang}$ représentent respectivement la résistance à la diffusion à travers le flux sanguin dans les capillaires pour l'oxygène et pour le dioxyde de carbone.

La résistance à travers la membrane pour l'oxygène et pour le dioxyde de carbone sont données par les relations suivantes [1] :

$$R_{O_2,membrane} = \frac{e_m}{P_{m,O_2}} \quad (eq. 2.37)$$

$$R_{CO_2,membrane} = \frac{e_m}{P_{m,CO_2}} \quad (eq. 2.38)$$

Où e_m est l'épaisseur de la membrane (en cm) ; et P_{m,O_2} et P_{m,CO_2} sont respectivement la perméabilité à l'oxygène et au dioxyde de carbone du matériau de la membrane (en $ml.cm.s^{-1}.cm^{-2}.mmHg^{-1}$). A noter que le matériau de la membrane utilisé est du PDMS, en partie grâce à sa haute perméabilité aux gaz, comme cela est décrit au partie III.2 de ce chapitre. La perméabilité du PDMS à l'oxygène P_{m,O_2} et au dioxyde de carbone P_{m,CO_2} est respectivement de 781 barrer ($7,81 \times 10^{-9} ml O_2.cm.s^{-1}.cm^{-2}.mmHg^{-1}$) et de 4450 barrer ($4,55 \times 10^{-8} ml CO_2.cm.s^{-1}.cm^{-2}.mmHg^{-1}$) comme indiqué dans le tableau 2.2.

La résistance à travers le flux sanguin explique le mouvement du gaz à travers les couches limites de diffusion qui existent à proximité des surfaces de fibres, où la vitesse du fluide est réduite par les forces de traînée. Les résistances à travers le flux sanguin pour l'oxygène et pour le dioxyde de carbone peuvent être exprimées comme suit [1] :

$$R_{O_2,sang} = \frac{\delta}{S_{s,O_2} D_{s,O_2}} \quad (eq. 2.39)$$

$$R_{CO_2,sang} = \frac{\delta}{S_{s,CO_2} D_{s,CO_2}} \quad (eq. 2.40)$$

où S_{s,O_2} (en ml O₂/ml sang/mmHg) et D_{s,O_2} (en cm²/s) sont les coefficients efficaces de solubilité et de diffusivité de l'oxygène diffusant dans le sang ; S_{s,CO_2} (en ml CO₂/ml sang/mmHg) et D_{s,CO_2} (en cm²/s) sont les coefficients efficaces de solubilité et de diffusivité du dioxyde de carbone diffusant dans le sang ; et enfin δ est l'épaisseur de la couche limite fluide moyenne du sang. Pour l'oxygène et le dioxyde de carbone, la solubilité efficace tient compte de l'augmentation de la solubilité due à la liaison de l'hémoglobine (pour l'oxygène) ou au transport sous forme d'ion bicarbonate (pour le dioxyde de carbone). D'après les hypothèses de Potkay, dans des microcanaux, la couche limite fluide est limitée par les petites dimensions. Ainsi afin de simplifier le modèle, δ est considérée comme la moitié de la hauteur du capillaire sanguin H (en cm).

Les résistances totales dans le dispositif peuvent donc s'écrire de la manière suivante :

$$R_{O_2,tot} = \frac{e_m}{P_{m,O_2}} + \frac{\frac{H}{2}}{S_{s,O_2} D_{s,O_2}} \quad (eq. 2.41)$$

$$R_{CO_2,tot} = \frac{e_m}{P_{m,CO_2}} + \frac{\frac{H}{2}}{S_{s,CO_2} D_{s,CO_2}} \quad (eq. 2.42)$$

III.3.4.2 – La solubilité et la diffusivité efficace de l'oxygène et du dioxyde de carbone

La solubilité et la diffusivité de l'oxygène et du dioxyde de carbone dans le sang sont reliées à leurs pressions partielles dans le sang. Lorsque le sang circule dans les capillaires, PO_2 et PCO_2 varient en fonction de l'échange de gaz. Cette modification des pressions partielles entraîne donc une modification correspondante de la solubilité et de la diffusivité de l'oxygène et du dioxyde de carbone. Afin de simplifier les équations dérivées, nous supposons que la solubilité et la diffusivité efficace pour chaque gaz sont constantes le long des capillaires. Nous appelons ces valeurs « solubilité efficace totale » et « diffusivité efficace totale » pour l'oxygène et pour le dioxyde de carbone. Elles sont calculées en déterminant la moyenne de la solubilité et de la diffusivité des gaz sur les pressions partielles pertinentes (c'est-à-dire les pressions partielles du sang utilisé entre l'entrée et la sortie du dispositif).

Calcul de la solubilité et de la diffusivité efficace totale de l'oxygène dans le sang

Dans le sang, la majorité de l'oxygène est lié à l'hémoglobine des globules rouges. L'absorption et la libération d'oxygène par les globules rouges est décrite par la courbe de dissociation de l'oxygène à l'hémoglobine [48]. Cette courbe qui relie la saturation en oxygène ($SatO_2$) à la pression partielle en oxygène (PO_2) est donnée dans l'équation 2.43 ci-dessous : (voir partie III.3.5.2 de ce chapitre).

$$SatO_2 = \frac{(PO_2 / P_{50})^n}{1 + (PO_2 / P_{50})^n} \quad (eq. 2.43)$$

Où P_{50} représente la pression partielle en oxygène où le sang est saturé à 50% ($SatO_2=50\%$) (en mmHg) et n est le coefficient de Hill (sans dimension). Pour le sang de cochon en conditions normales ($T=37^\circ C$ et $pH=7,4$), P_{50} est environ égale à 35,7 mmHg [51] et n environ égale à 2,94 [51].

Ainsi les variables décrivant la solubilité et la diffusivité de l'oxygène dans le sang doivent tenir compte de l'absorption et de la libération d'oxygène dans et hors des globules rouges. Dans ce modèle, la solubilité et la diffusivité efficace totale, S_{s,O_2} et D_{s,O_2} , sont définis respectivement comme la solubilité et la diffusivité efficace moyenne de l'oxygène sur la plage de pressions partielle le long des capillaires sanguin du dispositif. S_{s,O_2} et D_{s,O_2} sont donnés par les relations suivantes :

$$S_{s,O_2} = \frac{\int_{P_{O_2,min}}^{P_{O_2,max}} \alpha_{eff,O_2} dP_{O_2}}{P_{O_2,max} - P_{O_2,min}} \quad (eq. 2.44)$$

$$D_{s,O_2} = \frac{\int_{P_{O_2,min}}^{P_{O_2,max}} D_{eff,O_2} dP_{O_2}}{P_{O_2,max} - P_{O_2,min}} \quad (eq. 2.45)$$

Où $P_{O_2,min}$ est la pression partielle en oxygène la plus faible dans le sang (en mmHg), correspondant à la pression partielle attendue en entrée des capillaires sanguins; $P_{O_2,max}$ est la pression partielle en oxygène la plus élevée dans le sang, correspondant à la pression partielle attendue en sortie des capillaires sanguins (en mmHg) ; α_{eff,O_2} est la solubilité efficace de l'oxygène à une pression partielle donnée ; et enfin D_{eff,O_2} est la diffusivité efficace de l'oxygène à une pression partielle donnée. Vaslef *et coll.* [47] et Hewitt *et coll.* [46] ont décrit la solubilité et la diffusivité efficace à une PO_2 donnée.

L'équation de la diffusivité efficace peut être décrite comme suit :

$$D_{eff,O_2} = \frac{D_{pl,O_2}}{1 + c_T \frac{\lambda_{O_2}(PO_2)}{\alpha_{pl,O_2}}} \quad (eq. 2.46)$$

Où D_{pl,O_2} est la diffusivité de l'oxygène dans le plasma sanguin ($1,8 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ [46]) ; $c_T = 1,39 \text{ Hct}/3$ est la capacité de liaison en oxygène de l'hémoglobine (en $\text{ml O}_2/\text{ml sang}$) ; Hct est l'hématocrite (en fraction) ; $\lambda_{O_2}(PO_2)$ est la pente de la courbe de dissociation de l'oxygène à l'hémoglobine ($dSatO_2/dPO_2$), donnée dans l'équation 2.43 pour une PO_2 donnée ; et α_{pl,O_2} est la solubilité de l'oxygène dans le plasma sanguin ($3 \times 10^{-5} \text{ ml O}_2/\text{ml sang}/\text{mmHg}$ [46]).

Hewitt *et coll.* [46] ont également défini une solubilité efficace totale de l’oxygène dans le sang. La solubilité efficace est décrite comme suit :

$$\alpha_{eff,O_2} = \alpha_{pl,O_2} + c_T \times \lambda_{O_2}(PO_2) \quad (eq. 2.47)$$

- A noter que les constantes des équations ci-dessus pour l’oxygène dépendent de l’échantillon de sang utilisé (*Hct*, paramètres qui déterminent la courbe de dissociation de l’oxygène à l’hémoglobine : P_{50} , n), ainsi que des paramètres expérimentaux ($P_{O_2,min}$ et $P_{O_2,max}$). Par conséquent, ces constantes doivent être recalculées lors des tests expérimentaux afin de tenir compte des changements d’un ou de plusieurs de ces paramètres. Pour les calculs numériques développés dans cette partie, nous utilisons des valeurs moyennes théoriques de ces paramètres.

Calcul de la solubilité et de la diffusivité efficaces totales du dioxyde de carbone dans le sang

Le dioxyde de carbone dans le sang est principalement stocké sous forme d’ions bicarbonates (HCO_3^-) mais il peut également être dissous ou sous forme de carbamate. Les variables décrivant la solubilité et la diffusivité du dioxyde de carbone dans le sang doivent tenir compte de l’absorption et du rejet du dioxyde de carbone sous ces diverses formes. Mochizuki *et coll.* [49] a décrit une équation reliant la fraction volumique de dioxyde de carbone dans le sang (en considérant toutes ses formes) à la pression partielle de dioxyde de carbone (PCO_2) dans le sang. Cette équation est donnée dans l’équation 2.48 ci-dessous :

$$C_B = \frac{A_M \times B_M^{-2,548} \times PCO_2^{B_M}}{100} \quad (eq. 2.48)$$

Où C_B est la fraction volumique de dioxyde de carbone dans le sang, A_M et B_M sont des constantes qui doivent être déterminées pour un échantillon de sang spécifique. Ici, nous choisissons des valeurs de A_M et B_M estimées par Mochizuki *et coll.* [49] : A_M est estimée à 1,07 et B_M est estimée à 0,46 pour un sang veineux.

La solubilité et la diffusivité efficaces totales, S_{s,CO_2} et D_{s,CO_2} sont définies respectivement comme la solubilité et la diffusivité efficace moyenne du dioxyde de carbone sur la plage de pression partielle le long des capillaires sanguin du dispositif. Les équations sont analogues aux équations 2.44 et 2.45 et sont données ci-dessous :

$$S_{s,CO_2} = \frac{\int_{P_{CO_2,min}}^{P_{CO_2,max}} \alpha_{eff,CO_2} dP_{CO_2}}{P_{CO_2,max} - P_{CO_2,min}} \quad (eq. 2.49)$$

$$D_{s,CO_2} = \frac{\int_{P_{CO_2,min}}^{P_{CO_2,max}} D_{eff,CO_2} dP_{CO_2}}{P_{CO_2,max} - P_{CO_2,min}} \quad (eq. 2.50)$$

Où $P_{CO_2,min}$ est la pression partielle en dioxyde de carbone la plus faible dans le sang (en mmHg), correspondant à la pression partielle attendue en entrée des capillaires sanguins ; $P_{CO_2,max}$ est la pression partielle en dioxyde de carbone la plus élevée dans le sang (en mmHg), correspondant à la pression partielle attendue en sortie des capillaires sanguins ; α_{eff,CO_2} est la solubilité efficace du dioxyde de carbone à une pression partielle donnée ; et enfin D_{eff,CO_2} est la diffusivité efficace du dioxyde de carbone à une pression partielle donnée. La solubilité et la diffusivité efficaces du dioxyde de carbone sont données ci-dessous :

$$D_{eff,CO_2} = \frac{D_{pl,CO_2}}{\frac{\lambda_{CO_2}(PCO_2)}{\alpha_{pl,CO_2}}} \quad (eq. 2.51)$$

$$\alpha_{eff,CO_2} = \lambda_{CO_2}(PCO_2) \quad (eq. 2.52)$$

Dans les equations ci-dessus, D_{pl,CO_2} , est la diffusivité du dioxyde de carbone dans le plasma sanguin ($2,5 \times 10^{-5}$ cm²/s [50]), et α_{pl,CO_2} est la solubilité du dioxyde de carbone dans le plasma sanguin (6×10^{-4} ml CO₂/ml sang/mmHg [50]). $\lambda_{CO_2}(PCO_2)$ est la pente de la courbe de la fraction volumique de dioxyde de carbone ($dC_B/dPCO_2$), donnée dans l'équation 2.48, pour une PCO_2 donnée.

- A noter que les constantes des équations ci-dessus pour le dioxyde de carbone dépendent des paramètres expérimentaux ($P_{CO_2,min}$ et $P_{CO_2,max}$). Par conséquent, ces constantes doivent être recalculées lors des tests expérimentaux afin de tenir compte des changements de ces paramètres.

Nous avons calculé les valeurs de solubilité et de diffusivité efficace totale pour l'oxygène (à savoir S_{s,O_2} et D_{s,O_2}) et pour le dioxyde de carbone (à savoir S_{s,CO_2} et D_{s,CO_2}) diffusant dans le sang à 37°C, pour un pH de 7,4 ; et pour une gamme de pression partielle allant de 45 à 195 mmHg pour l'oxygène et de 20 à 60 mmHg pour le dioxyde de carbone. Ce sont les gammes de pressions partielles attendues dans le dispositif. La méthode de calcul utilisée est décrite annexe 6. Les paramètres qui nous ont permis de calculer ces valeurs sont indiqués dans le tableau 2.3 et les valeurs calculées correspondantes sont données dans le tableau 2.4.

Paramètres	Symboles	Unités	Valeurs
Hématocrite	Hct	%	33 [38]
Capacité de liaison en oxygène de l'hémoglobine	cT	ml O ₂ /ml sang	1,39 Hct/3
Diffusivité de l'oxygène dans le plasma sanguin	D_{pl,O_2}	cm ² /s	1,8x10 ⁻⁵ [50]
Solubilité de l'oxygène dans le plasma sanguin	α_{pl,O_2}	ml O ₂ /ml sang/mmHg	3x10 ⁻⁵ [50]
Diffusivité du dioxyde de carbone dans le plasma sanguin	D_{pl,CO_2}	cm ² /s	2,5x10 ⁻⁵ [54]
Solubilité du dioxyde de carbone dans le plasma sanguin	α_{pl,CO_2}	ml CO ₂ /ml sang/mmHg	6x10 ⁻⁴ [54]
Coefficient de Hill	n		2,94 [55]
Pression partielle de l'oxygène où le sang est saturé à 50%	P_{50}	mmHg	35,7 [55]
Pression partielle en oxygène la plus faible en entrée du dispositif	$P_{O_2,min}$	mmHg	45
Pression partielle en oxygène la plus élevée en sortie du dispositif	$P_{O_2,max}$	mmHg	195
Pression partielle en dioxyde de carbone la plus faible en entrée du dispositif	$P_{CO_2,min}$	mmHg	60
Pression partielle en dioxyde de carbone la plus élevée en sortie du dispositif	$P_{CO_2,max}$	mmHg	20

Tableau 2.3. Paramètres sanguin et expérimentaux théoriques permettant de calculer la solubilité et de la diffusivité efficaces moyennes pour l'oxygène et le dioxyde de carbone diffusant dans le sang à une température de 37°C et un pH de 7,4. Les valeurs de la solubilité et de la diffusivité efficaces moyennes calculées sont données dans le tableau 2.4.

Solubilité efficace moyenne de l'oxygène dans le sang	S_{s,O_2}	ml O ₂ / ml sang / mmHg	3,65x10 ⁻⁴
Diffusivité efficace moyenne de l'oxygène dans le sang	D_{s,O_2}	cm ² /s	4,89x10 ⁻⁶
Solubilité efficace moyenne du dioxyde de carbone dans le sang	S_{s,CO_2}	ml CO ₂ / ml sang / mmHg	5,05x10 ⁻³
Diffusivité efficace moyenne du dioxyde de carbone dans le sang	D_{s,CO_2}	cm ² /s	3,05x10 ⁻⁶

Tableau 2.4. Valeurs de la solubilité et de la diffusivité efficaces moyennes pour l'oxygène et le dioxyde de carbone diffusant dans le sang à une température de 37°C et un pH de 7,4, pour les paramètres sanguins et expérimentaux donnés dans le tableau 2.3.

Après avoir déterminé les paramètres importants (solubilités et diffusivités efficaces des gaz S_{s,O_2} et D_{s,O_2} ; S_{s,CO_2} et D_{s,CO_2}), nous pouvons maintenant décrire les équations du modèle de Potkay.

III.3.5 – La dérivation mathématique de Potkay

La figure 2.20 présente une coupe transversale de la structure tri-couches avec une représentation simplifiée du phénomène physique de l'échange d'oxygène. Les paramètres importants pour les calculs numériques y sont indiqués.

Lorsque le sang entre dans le capillaire sanguin à gauche de la figure, la pression partielle en oxygène dans le sang (PO_2) est faible. Puis, pendant que le sang circule le long du capillaire, l'oxygène se diffuse hors du microcanal d'oxygénation, traverse la membrane, puis se dissout dans le plasma sanguin. L'oxygène peut alors soit rester dissous, soit se diffuser dans un globule rouge et se lier à l'hémoglobine. L'oxygène non lié à l'hémoglobine sert à augmenter la PO_2 dans le sang.

Le calcul mathématique est décrit ci-dessous pour l'échange d'oxygène. Cependant, il peut être appliqué à l'échange de CO_2 en considérant que la teneur en CO_2 dans le sang est décrite par la courbe reliant la fraction volumique de dioxyde de carbone dans le sang (en considérant toutes ses formes) à la pression partielle de dioxyde de carbone (PCO_2) dans le sang, présentée par Mochizuki *et coll.* [49] (équation 2.48) et que le CO_2 diffuse dans la direction opposée de l'oxygène, c'est-à-dire du sang vers les microcanaux d'oxygénation.

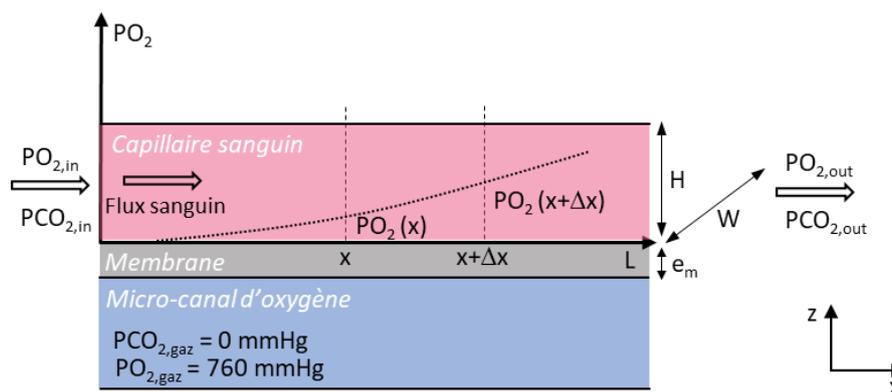


Figure 2.20. Schéma d'une coupe transversale de la structure tri-couches avec une représentation simplifiée du phénomène physique de l'échange de gaz. Les paramètres importants pour la simulation d'échange de gaz y sont indiqués.

En se référant à la figure 2.20, on peut remarquer que la pression partielle en oxygène à la distance $x + \Delta x$ est égale à la pression partielle à la distance x plus le changement de pression partielle qui se produit de la distance x à la distance $x + \Delta x$. Ce qui donne l'équation suivante :

$$PO_2(x + \Delta x) = PO_2(x) + \Delta p_{O_2} \quad (\text{eq. 2.53})$$

Pour aboutir à une solution en forme fermée, il faut définir Δp_{O_2} . Nous pouvons définir une solubilité efficace de l'oxygène dans le sang comme $S_{s,O_2} = V_{O_2}/V_s/PO_2$, où V_{O_2} est le volume d'oxygène stocké dans le sang, V_s est le volume de sang, et PO_2 est la pression partielle de l'oxygène dans le sang. S_{s,O_2} prend en compte l'oxygène dissous dans le plasma sanguin et l'oxygène lié à l'hémoglobine. En utilisant la relation ci-dessus, Δp_{O_2} peut s'écrire comme suit :

$$\Delta p_{O_2} = \frac{\Delta V_{O_2}}{V_{s,\Delta x} S_{s,O_2}} \quad (eq. 2.54)$$

Où ΔV_{O_2} est le changement du volume d'oxygène dans la région Δx et $V_{s,\Delta x}$ est le volume de sang dans la région Δx . $V_{s,\Delta x}$ peut s'écrire $V_{s,\Delta x} = W H \Delta x$ où W et H sont respectivement la largeur et la hauteur du capillaire sanguin. A ce stade de la dérivation, ΔV_{O_2} est toujours une quantité inconnue. En reprenant l'équation 2.12 de Ferderspiel *et coll.* [1], sur une petite distance x , l'échange de gaz peut s'écrire comme suit :

$$\frac{\Delta V_{O_2}}{\Delta t} = \frac{S_{A,\Delta x} (P_{O_2,gaz} - P_{O_2,sang})}{R_{O_2,tot}} \quad (eq. 2.55)$$

Où $S_{A,\Delta x}$ est la surface d'échange pour l'échange de gaz dans la région Δx , $P_{O_2,gaz} - P_{O_2,sang}$ est la différence de pression partielle en oxygène entre le gaz d'oxygénation et le sang, $R_{O_2,tot}$ est la résistance totale à la diffusion d'oxygène dans la membrane et dans la couche limite fluide du sang, comme décrit dans l'équation 2.41. Ensuite en définissant $\Delta t = \Delta x/v_s$ ou v_s est la vitesse moyenne du flux sanguin, puis en remplaçant les équations 2.54 et 2.55 dans l'équation 2.53, il en résulte l'équation suivante :

$$\frac{PO_2(x + \Delta x) - PO_2(x)}{\Delta x} = \frac{1}{R_{O_2} H S_{s,O_2} v_s} [P_{O_2,gaz} - P_{O_2,sang}(x)] \quad (eq. 2.56)$$

En prenant la limite comme $\Delta x \rightarrow 0$, l'équation 2.56 devient une équation différentielle. La solution à cette équation est présentée dans le paragraphe suivant.

III.3.5.1 – Estimation des pressions partielles en oxygène (PO_2) et en dioxyde de carbone (PCO_2) dans le sang

L'évolution des pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone dans le sang le long des capillaires sanguins est donnée dans les équations 2.57 et 2.58.

$$PO_2(x) = P_{O_2,gaz} + (P_{O_2,entrée} - P_{O_2,gaz}) e^{-\frac{x}{(R_{O_2,tot} H S_{s,O_2} v_s)}} \quad (eq. 2.57)$$

$$PCO_2(x) = P_{CO_2,gaz} + (P_{CO_2,entrée} - P_{CO_2,gaz}) e^{-\frac{x}{R_{CO_2,tot} H S_{s,CO_2} v_s}} \quad (eq. 2.58)$$

Où $PO_2(x)$ et $PCO_2(x)$ sont respectivement les pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone à une distance x du capillaire sanguin (en mmHg) ; $P_{O_2,gaz}$ et $P_{CO_2,gaz}$ sont respectivement les pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone dans les microcanaux d'oxygénation (en mmHg) ; $P_{O_2,entrée}$ et $P_{CO_2,entrée}$ sont respectivement les pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone à l'entrée des capillaires (à $x = 0$) (en mmHg) ; $R_{O_2,tot}$ et $R_{CO_2,tot}$ sont respectivement les résistances totales à la diffusion de l'oxygène et du dioxyde de carbone (ces deux paramètres sont expliqués partie III.3.4.1 de ce chapitre) ; H est la hauteur des capillaires sanguins (en cm) ; S_{s,O_2} et S_{s,CO_2} sont respectivement les solubilités efficaces totales de l'oxygène et du dioxyde de carbone dans le sang (ces deux paramètres sont expliqués partie III.3.4.1 de ce chapitre) ; et v_s est la vitesse moyenne du flux sanguin ($cm.s^{-1}$).

D'autre part, la vitesse du flux sanguin dans les capillaires est donnée par la relation suivante :

$$v_s = \frac{Q}{W_{tot} H} \quad (eq. 2.59)$$

Où Q est le flux sanguin (en $ml.s^{-1}$) et W_{tot} la largeur totale de tous les capillaires (en cm).

Les équations 2.57 et 2.58 peuvent s'écrire en fonction du débit sanguin Q et de la surface d'échange du dispositif S_A (en cm^2) si l'on cherche à obtenir les pressions partielles en sortie des capillaires sanguin, où $x = L$ (L étant la longueur des capillaires sanguins), comme décrit ci-dessous.

En utilisant la relation 2.59 et sachant que $S_A = L W_{tot}$ alors les équations 2.57 et 2.58 peuvent s'écrire de la manière suivante :

$$PO_2(L) = P_{O_2,gaz} + (P_{O_2,entrée} - P_{O_2,gaz}) e^{-\frac{S_A}{Q S_{s,O_2} R_{O_2,tot}}} \quad (eq. 2.57bis)$$

$$PCO_2(L) = P_{CO_2,gaz} + (P_{CO_2,entrée} - P_{CO_2,gaz}) e^{-\frac{S_A}{(Q S_{s,CO_2} R_{CO_2,tot})}} \quad (eq. 2.58bis)$$

Le modèle de Potkay nous permet donc de calculer les pressions partielles en oxygène (PO_2) et en dioxyde de carbone (PCO_2) dans le sang en sortie des capillaires sanguins.

En conclusion, le modèle physique d'échange de gaz est dû à une différence de pression partielle de part et d'autre de la membrane ; et ce phénomène aura lieu jusqu'à un potentiel d'équilibre des pressions partielles de chaque côté de la membrane. En prenant comme exemple l'oxygène, à mesure que le gaz se diffuse à travers la membrane puis dans le sang, la pression partielle dans le sang augmente. La différence de pression partielle entre les capillaires et les micro-canaux d'oxygénation diminue, ce qui ralentit la diffusion de l'oxygène dans le sang. A mesure que la pression partielle d'oxygène dans le sang s'approche de celle des micro-canaux d'oxygénation, la diffusion des gaz diminue proportionnellement. En se référant aux équations 2.57 et 2.58, on peut déduire que la pression partielle des gaz dans le sang se rapproche de façon exponentielle de la pression partielle des gaz dans les micro-canaux d'oxygénation.

III.3.5.2 – Estimation de la saturation de l'hémoglobine en oxygène ($SatO_2$)

Comme déjà évoqué, la saturation de l'hémoglobine en oxygène ($SatO_2$) que l'on appelle plus communément « saturation en oxygène » représente la quantité d'hémoglobine saturée en oxygène par rapport à la quantité totale d'hémoglobine dans le sang (elle est exprimée en pourcentage).

La courbe de dissociation de l'oxygène à l'hémoglobine établit un lien entre la saturation de l'hémoglobine en oxygène ($SatO_2$) et la pression partielle en oxygène (PO_2) disponible, comme décrit par l'équation de Hill ci-dessous [48], déjà présenté dans la partie III.3.4.2 de ce chapitre :

$$SatO_2 = \frac{(PO_2 / P_{50})^n}{1 + (PO_2 / P_{50})^n} \quad (eq. 2.43)$$

Où P_{50} représente la pression partielle de l'oxygène où le sang est saturé à 50% ($SatO_2=50\%$) (en mmHg) et n est le coefficient de Hill (sans dimension). Pour le sang de cochon en conditions normales ($T=37^\circ C$ et $pH=7,4$), P_{50} est environ égale à 35,7 mmHg [51] et n environ égale à 2,94 [51].

IV – Résultats des calculs numériques

D'après les équations de Potkay 2.57 et 2.58 discuté précédemment, la performance d'oxygénation et de retrait du CO₂ est principalement influencée par six paramètres : la différence de pression partielle entre le gaz d'oxygénation et le sang $P_{gaz} - P_{sang}$; la surface pour l'échange de gaz S_A ; l'épaisseur e_m et la perméabilité P_m de la membrane ; la hauteur des capillaires sanguins H ainsi que le débit sanguin Q . Dans cette partie, des calculs numériques de l'échange de gaz ont été réalisés :

- 1/ pour comprendre quels paramètres influent le plus sur l'échange de gaz
- 2/ pour déterminer les valeurs adéquates des paramètres pour une obtenir une efficacité maximale de l'échange de gaz.

Afin de maximiser la différence de pression partielle entre le gaz d'oxygénation et le sang ($P_{gaz} - P_{sang}$), nous avons choisi d'utiliser de l'oxygène pur comme gaz d'oxygénation, dont la pression partielle en oxygène ($PO_{2,gaz}$) est de 760 mmHg et la pression partielle en dioxyde de carbone ($PCO_{2,gaz}$) est de 0 mmHg.

Le modèle mathématique utilisé est celui de Potkay *et coll.* [25] décrit dans la section précédente. Les équations déterminantes résolues permettant d'estimer des valeurs de **pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone en sortie de dispositif (respectivement $PO_{2,sortie}$ et $PCO_{2,sortie}$)** sont les équations 2.57bis et 2.58bis. L'équation de Hill [48] permettant d'estimer **la saturation en oxygène en sortie du dispositif ($SatO_{2,sortie}$)** en fonction de la pression partielle en oxygène en sortie ($PO_{2,sortie}$) est décrit dans l'équation 2.43. Enfin les équations 2.23 et 2.34 permettent d'établir des valeurs des **taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone en sortie du dispositif** en fonction des variations des pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone entre l'entrée et la sortie du dispositif (ΔPO_2 et ΔPCO_2), en fonction de la variation de la saturation en oxygène entre l'entrée et la sortie du dispositif ($\Delta SatO_2$) et enfin en fonction du débit sanguin Q .

Les paramètres du sang en entrée ($PO_{2, entrée}$; $PCO_{2, entrée}$; et $SatO_{2, entrée}$) ont été choisis selon les directives de la « Food and Drug Administration » (FDA) [52] qui donne les conditions principales à respecter pour des tests d'oxygénation et de retrait du CO₂ des oxygénateurs cardiorespiratoires. Il est indiqué que la saturation en oxygène du sang en entrée (**$SatO_{2, entrée}$ doit être de 65 % ± 5 %**) et la pression partielle en dioxyde de carbone en entrée (**$PCO_{2, entrée}$ doit être de 45 mmHg ± 5 mmHg**). A noter qu'une saturation en oxygène de 65% correspond à une pression partielle en oxygène (PO_2) d'environ 45 mmHg, d'après la courbe de dissociation en oxygène [48] (équation 2.43 avec $P_{50}=35,7$ mmHg et $n = 2,94$). Les valeurs de tous les paramètres sanguins et expérimentaux utilisés pour ces calculs numériques sont résumées dans le tableau 2.5 (les plages des valeurs des paramètres étudiés sont représentées en gras). Pour rappel, les valeurs de la solubilité et de la diffusivité efficaces de l'oxygène et du dioxyde de carbone sont indiquées sur le tableau 2.4.

Sur la figure 2.21 sont présentés les calculs numériques des variations de pressions partielles en oxygène (ΔPO_2) et en dioxyde de carbone (ΔPCO_2), et la saturation en oxygène en sortie ($SatO_{2, sortie}$) en fonction du débit sanguin Q , pour différentes épaisseurs de membranes e_m (fig.4 (a)), pour différentes hauteurs de capillaires H (fig.4 (b)), pour différentes surface d'échange S_A (fig.4 (c)), et pour deux perméabilités de matériau de la membrane P_m : la perméabilité du PDMS et une perméabilité de matériau 10 fois plus élevée que la perméabilité du PDMS (fig.4 (d)).

Les figures 2.22 et 2.23 illustrent les valeurs des taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone en fonction du débit sanguin Q pour les mêmes paramètres que précédemment, à savoir pour différentes épaisseurs de membranes e_m (fig.2.22 et fig.2.23 (a)), pour différentes hauteurs de capillaires H (fig.2.22 et fig.2.23 (b)), pour différentes surfaces d'échange S_A (fig.2.22 et fig.2.23 (c)), et pour deux perméabilités de matériau de la membrane P_m : la perméabilité du PDMS et une perméabilité de matériau 10 fois plus élevées que la perméabilité du PDMS (fig.2.22 et fig.2.23 (d)).

Paramètres	Symboles	Unités	Valeurs
Hauteur des capillaires sanguins	H	μm	35 - 85 - 105 - 135
Longueur des capillaires sanguins	L	cm	3,5
Largeur des capillaires sanguins	W	μm	200
Épaisseur de la membrane	e_m	μm	15 - 45 - 75 - 105
Surface d'échange	S_A	cm^2	10 - 20 - 30 - 40
Perméabilité de la membrane à l'oxygène	P_{m,O_2}	Barrer	781 (PDMS) – 7810
Perméabilité de la membrane au dioxyde de carbone	P_{m,CO_2}	Barrer	4550 (PDMS) – 45500
Débit sanguin	Q	ml/min	1 - 5 - 10 - 15
Pression partielle en oxygène en entrée	$PO_{2, \text{entrée}}$	mmHg	45
Pression partielle en dioxyde de carbone en entrée	$PCO_{2, \text{entrée}}$	mmHg	45
Saturation de l'hémoglobine en entrée	$SatO_{2, \text{entrée}}$	%	65
Température	T	$^{\circ}\text{C}$	37
pH du sang	pH		7,4
Concentration totale en hémoglobine dans le sang	$ctHb(g)$	g Hb/ml sang	0,10 [61]
Constante de solubilité de l'oxygène dans le plasma sanguin	$S_{O_2, \text{plasma}}$	$\text{ml O}_2/\text{mmHg/ml sang}$	0,0000314
Le pouvoir oxyphorique théorique de l'hémoglobine		$\text{ml O}_2/\text{g Hb}$	1,39

Tableau 2.5. Paramètres sanguins et expérimentaux utilisés pour les calculs numériques. Les plages des valeurs des paramètres étudiés sont représentées en gras dans le tableau.

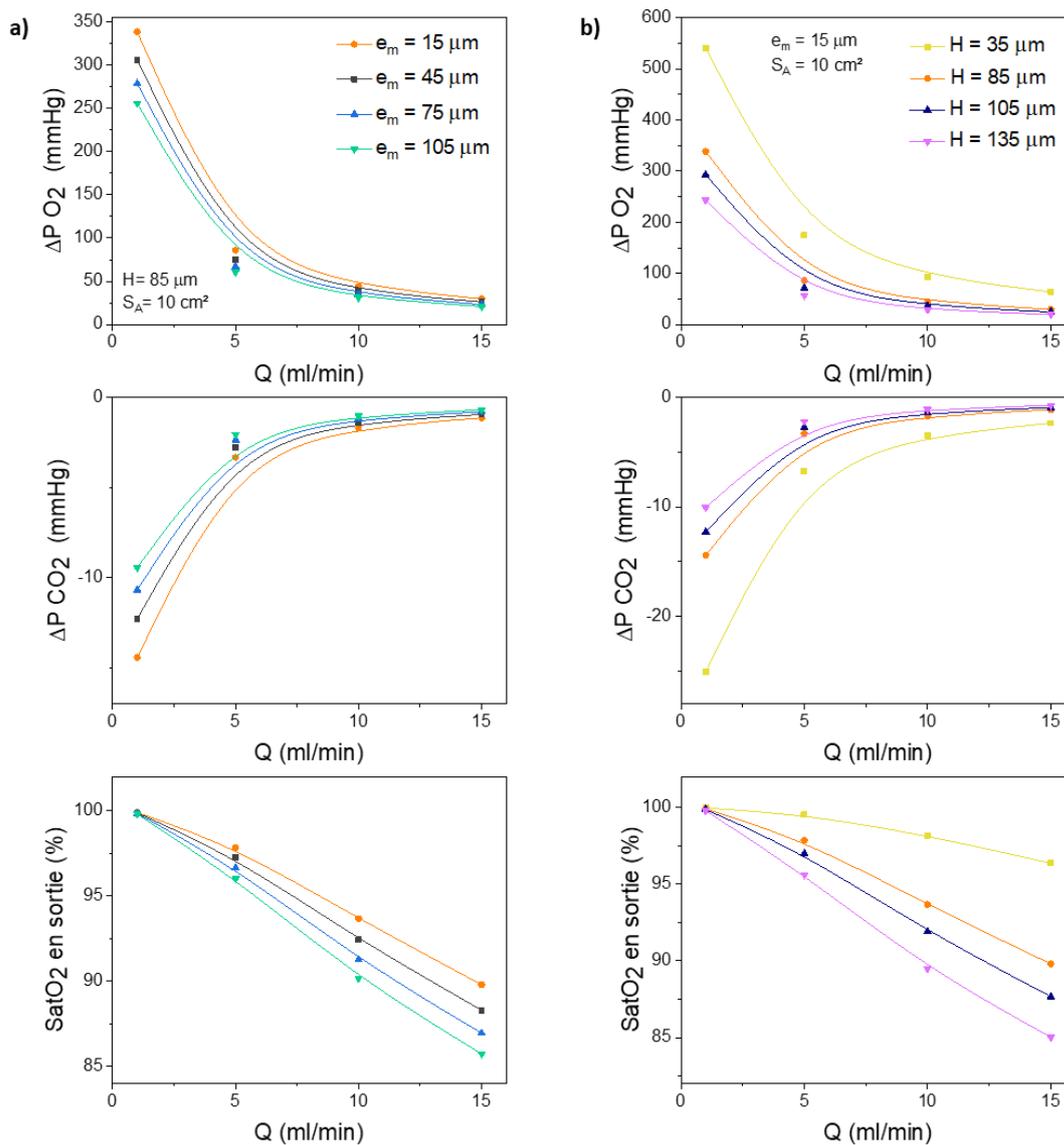


Figure 2.21. Résultats des calculs numériques avec les variations des pressions partielles en oxygène (ΔP_{O_2}) et en dioxyde de carbone (ΔP_{CO_2}) entre l'entrée et la sortie du dispositif, et la saturation en oxygène en sortie du dispositif (SatO_2 en sortie) en fonction du débit sanguin Q , pour différentes épaisseurs de membranes e_m (a), et pour différentes hauteurs de capillaires H (b). Ces valeurs ont été obtenues grâce au modèle mathématique de Potkay [25].

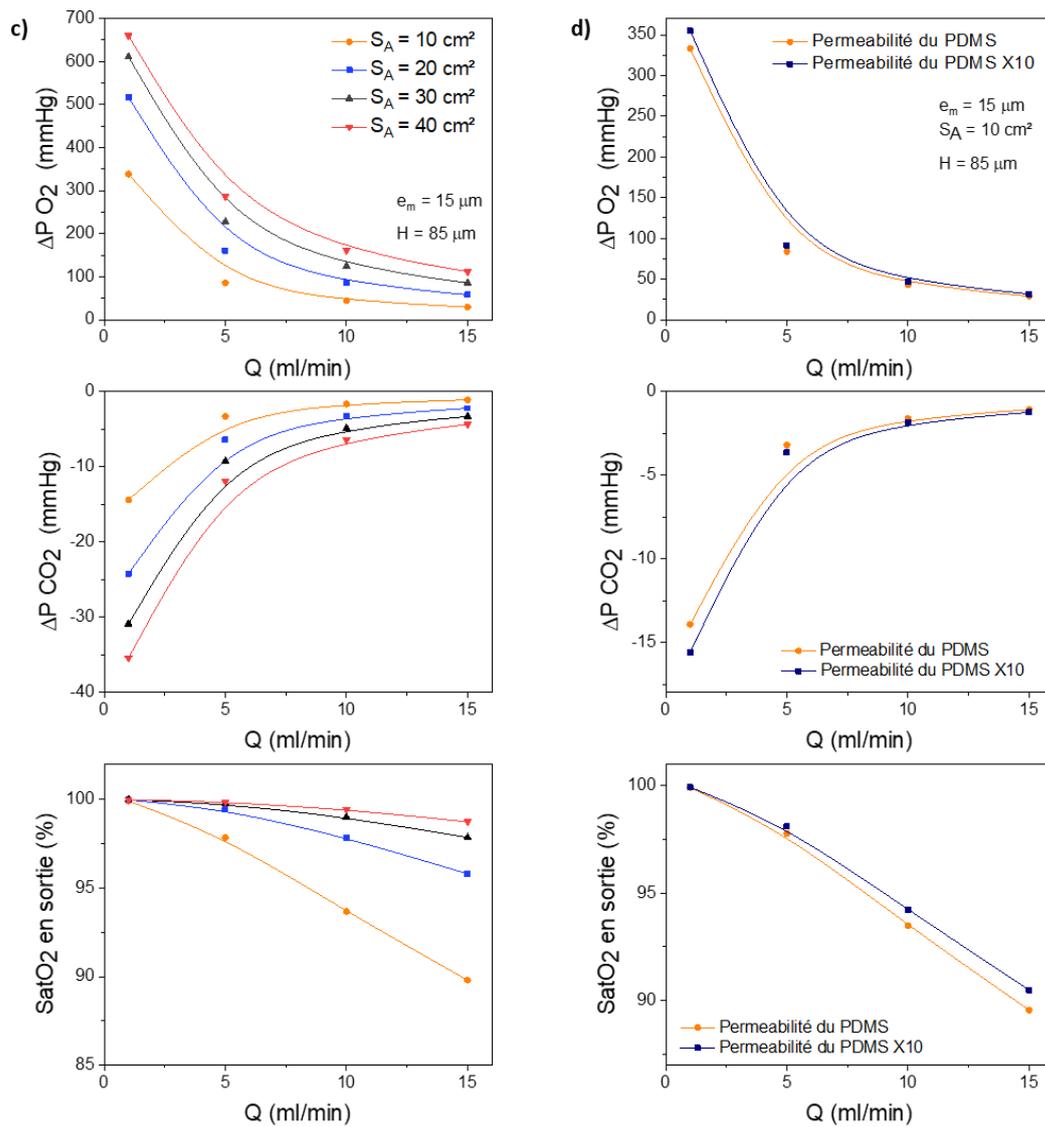


Figure 2.21(bis). Résultats des calculs numériques avec les variations des pressions partielles en oxygène (ΔP_{O_2}) et en dioxyde de carbone (ΔP_{CO_2}) entre l'entrée et la sortie du dispositif, et la saturation en oxygène en sortie du dispositif ($SatO_2$ en sortie) en fonction du débit sanguin Q , pour différentes surfaces d'échange S_A (c), et pour deux perméabilités de matériau de la membrane P_m : la perméabilité du PDMS et une perméabilité de matériau 10 fois plus élevés que la perméabilité du PDMS (d). Ces valeurs ont été obtenues grâce au modèle mathématique de Potkay [25].

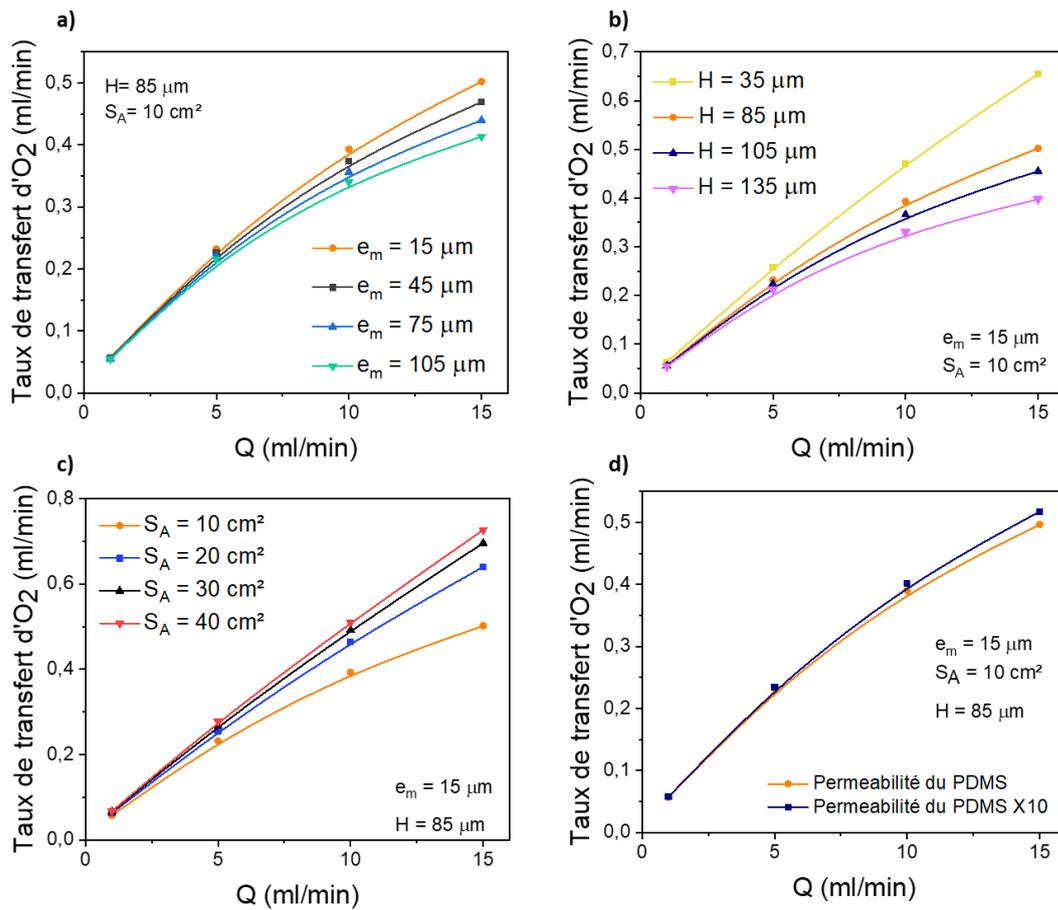


Figure 2.22. Résultats des calculs numériques avec le taux de transfert d'oxygène entre l'entrée et la sortie du dispositif en fonction du débit sanguin Q , pour différentes épaisseurs de membranes e_m (a), pour différentes hauteurs de capillaires H (b), pour différentes surfaces d'échange S_A (c), et pour deux perméabilités de matériau P_m : la perméabilité du PDMS et une perméabilité de matériau 10 fois plus élevée que la perméabilité du PDMS (d). Ces valeurs de taux de transfert d'oxygène ont été calculé par rapport aux valeurs de variations de pressions partielles en oxygène (ΔP_{O_2}) et de variation de saturation en oxygène (ΔSat_{O_2}) obtenus précédemment grâce au modèle mathématique de Potkay [25].

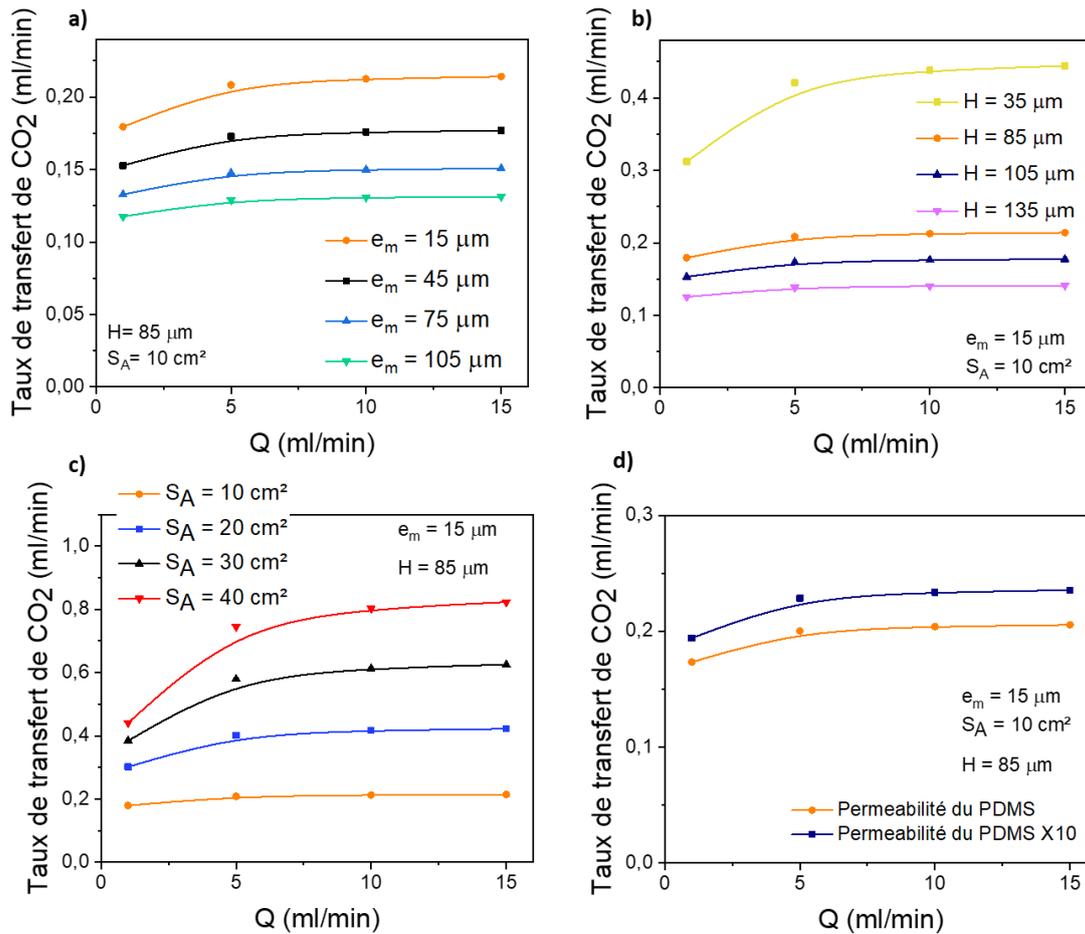


Figure 2.23. Résultats des calculs numériques avec le taux de transfert de dioxyde de carbone entre l'entrée et la sortie du dispositif en fonction du débit sanguin Q , pour différentes épaisseurs de membranes e_m (a), pour différentes hauteurs de capillaires H (b), pour différentes surfaces d'échange S_A (c), et pour deux perméabilités de matériau de membrane P_m : la perméabilité du PDMS et une perméabilité de matériau 10 fois plus élevés que la perméabilité du PDMS (d). Ces valeurs de taux de transfert de dioxyde de carbone ont été calculé par rapport aux valeurs de variations de pressions partielles en dioxyde de carbone (ΔP_{O_2}) obtenus précédemment grâce au modèle mathématique de Potkay [25].

Comme cela était attendu, les résultats des calculs numériques, présentés figure 2.21, montrent dans un premier temps une diminution de l'échange de gaz (ΔPO_2 , ΔPCO_2 et $SatO_2$ en sortie) avec :

- L'augmentation du débit sanguin Q
- L'élargissement de l'épaisseur de la membrane e_m
- L'élévation de la hauteur des capillaires sanguins H
- L'abaissement de la surface d'échange S_A

D'autre part, on observe qu'un matériau 10 fois plus perméable que le PDMS (pour la membrane de diffusion) ne modifie pas significativement l'échange de gaz.

Concernant la géométrie du dispositif, on remarque que l'influence sur l'échange de gaz de la hauteur des capillaires H et de la surface d'échange S_A est plus importante que l'épaisseur de la membrane e_m (pour les gammes de hauteurs de capillaire, surfaces d'échange et épaisseurs de membrane choisies).

Contrairement à ΔPO_2 , ΔPCO_2 , ainsi que $SatO_2$ en sortie, on remarque que le taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone augmentent en fonction du débit sanguin (figure 2.22 et figure 2.23). Il faut toutefois mentionner que le taux de transfert de dioxyde de carbone n'augmente presque plus en fonction du débit sanguin pour les débits supérieurs à 5 ml/min (contrairement au taux de transfert d'oxygène qui lui augmente continuellement jusqu'à 15 ml/min).

Néanmoins, l'élévation du débit sanguin implique aussi une hausse de la chute de pression qui doit être minimisée si l'on souhaite pouvoir maintenir en vie un film de cellules endothéliales à l'intérieur des microcapillaires sanguins.

Pour garantir un échange de gaz suffisant, la saturation en oxygène en sortie ($SatO_2$ en sortie) qui est dépendante de la PO_2 ne doit pas être inférieure à 95% [52]. Comme énoncé dans le chapitre 1 partie III.2, d'après l'AAMI (Association for the Advancement of Medical Instrumentation), les taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone minimal d'un oxygénateur doivent être respectivement de 45 ml O_2 /min et de 38 ml CO_2 /min pour un débit sanguin d'1 l/min [59]. En imaginant que l'on empile 100 structures tri-couches en parallèle pour obtenir un débit sanguin total d'1 l/min, le débit sanguin dans chaque structure tri-couches serait alors de 10 ml/min. Le taux de transfert minimal d'oxygène et de dioxyde de carbone devront être de 0,45 ml O_2 /min et 0,38 ml CO_2 /min respectivement, par structure tri-couches.

Concernant la variation de l'épaisseur de la membrane (fig.21 (a), fig.22 (a) et fig.23 (a)) pour une hauteur de capillaires de 85 μm et une surface d'échange de 10 cm^2 :

- **SatO₂ en sortie est supérieure à 95% pour un débit maximum de 5 ml/min pour toutes les épaisseurs de membranes.** Plus le débit sanguin augmente, plus l'épaisseur de la membrane joue un rôle, même si l'écart reste finalement relativement faible. Ainsi pour un débit sanguin de 15 ml/min et pour des épaisseurs de membrane variant de 15 à 105 μm , la différence de saturation en oxygène n'est que de 4%.
- **Le taux de transfert d'oxygène est inférieur à 0,45 ml O₂/min pour un débit sanguin de 10 ml/min pour toutes les épaisseurs de membrane** (à noter que pour la plus petite épaisseur de membrane de 15 μm , le taux de transfert d'oxygène n'est pas loin des recommandations avec une valeur de 0,4 ml O₂/min). Comme pour SatO₂ en sortie, plus le débit sanguin augmente, plus l'épaisseur de la membrane joue un rôle sur le taux de transfert d'oxygène, même si l'écart reste finalement assez faible. Ainsi pour un débit sanguin de 15 ml/min et pour des épaisseurs de membrane de 15 et 105 μm , l'écart entre les valeurs de taux de transfert d'oxygène n'est que de 0.08 ml d'O₂/min.
- **Le taux de transfert de dioxyde de carbone est très inférieur à 0,38 ml O₂/min pour un débit sanguin de 10 ml/min pour toutes les épaisseurs de membrane.** En effet pour un débit sanguin de 10 ml/min et pour la plus petite épaisseur de membrane de 15 μm , le taux de transfert de dioxyde de carbone est de 0,21 ml CO₂/min. Aux vues des valeurs très basses du taux de transfert de dioxyde de carbone, il convient de trouver quel(s) paramètre(s) pourrait(ent) augmenter drastiquement les valeurs.

En résumé, pour une hauteur de capillaires de 85 μm , une surface d'échange de 10 cm^2 , et des épaisseurs de membrane allant de 15 à 105 μm , le dispositif ne garantit pas un échange de gaz suffisant. D'autre part, on remarque que l'épaisseur de la membrane ne joue pas un rôle fondamental sur la performance d'oxygénation et de retrait du CO₂ comparé au débit sanguin (pour cette gamme d'épaisseur de membrane). D'un point de vue technique, la manipulation de membranes très fines peut être difficile. Les résultats ci-dessus nous donne donc une liberté sur l'épaisseur de la membrane en PDMS lors de sa fabrication et de son intégration dans des structures tri-couches (voir chap.3 suivant).

Concernant la variation de la hauteur des capillaires sanguins (fig. 21 (b), fig.22 (b) et fig.23 (b)) pour une épaisseur de membrane de 15 μm et une surface d'échange de 10 cm^2 :

- $SatO_2$ en sortie est supérieure à 95% pour tous les débits sanguins pour une hauteur de 35 μm . Pour les autres hauteurs de capillaires, la saturation en oxygène est supérieure à 95% si le débit reste inférieur à 5 ml/min.
- Le taux de transfert d'oxygène est supérieur aux recommandations médicales, c'est-à-dire supérieur à 0,45 ml O_2 /min pour un débit sanguin de 10 ml/min, seulement pour une hauteur de capillaire de 35 μm . D'ailleurs pour un débit de 15 ml/min et une hauteur de capillaires de 35 μm , le taux de transfert d'oxygène est très élevé avec une valeur de 0,65 ml d' O_2 /min. Pour le même débit et pour une hauteur de capillaire de 85 μm , le taux de transfert d'oxygène s'abaisse à 0,50 ml d' O_2 /min.
- Enfin le taux de transfert de dioxyde de carbone est supérieur aux recommandations médicales, c'est-à-dire supérieur à 0,38 ml CO_2 /min pour un débit sanguin de 10 ml/min, seulement pour une hauteur de capillaire de 35 μm .

En conclusion, pour une épaisseur de membrane de 15 μm , une surface d'échange de 10 cm^2 , et une hauteur de 35 μm , le dispositif garantit un échange de gaz suffisant (contrairement aux autres hauteurs de capillaires). Pour l'échange de gaz, il serait intéressant de travailler avec une hauteur aussi petite que 35 μm . Toutefois, il faut également considérer la chute de pression qui, pour cette hauteur de capillaires, est supérieure aux 100 mmHg réglementaire même pour le plus petit débit sanguin de 1 ml/min (voir partie II.3.3 de ce chapitre). **En considérant la chute de pression, d'après les calculs numériques réalisés dans la partie II.3.3 de ce chapitre, la hauteur de capillaire minimale serait de 105 μm .**

Concernant la variation de la surface d'échange (fig. 21 (c), fig.22 (c) et fig.23 (c)) pour une épaisseur de membrane de 15 μm et une hauteur de capillaire de 85 μm :

- **$SatO_2$ en sortie est supérieure à 95% pour tous les débits sanguins pour une surface d'échange supérieure ou égale à 20 cm^2 .** Pour une surface d'échange de 10 cm^2 , $SatO_2$ en sortie est supérieure à 95% si le débit reste inférieur à 5 ml/min. **On remarque que la saturation en oxygène augmente fortement lorsque la surface d'échange passe de 10 à 20 cm^2 . Par exemple pour un débit sanguin de 15 ml/min, $SatO_2$ en sortie passe de 89 à 95%.**
- **Le taux de transfert d'oxygène est supérieur à 0,45 ml O_2 /min pour un débit sanguin de 10 ml/min, pour une surface d'échange supérieure ou égale à 20 cm^2 .** On remarque que le taux de transfert d'oxygène augmente également fortement entre la surface d'échange de 10 et 20 cm^2 à partir de 5 ml/min. Par exemple pour un débit sanguin de 15 ml/min, le taux de transfert d'oxygène passe de 0,5 ml d' O_2 /min à 0,64 ml d' O_2 /min lorsque la surface d'échange passe de 10 à 20 cm^2 . Pour les surfaces d'échange de 20, 30 et 40 cm^2 , l'écart entre les courbes est moins flagrant.

- **Enfin le taux de transfert de dioxyde de carbone est supérieur à 0,38 ml CO₂/min pour un débit sanguin de 10 ml/min, pour une surface d'échange supérieure ou égale à 20 cm².** A la différence du taux de transfert d'oxygène, le taux de transfert de dioxyde de carbone ne cesse d'augmenter avec la surface d'échange. Par exemple pour un débit de 15 ml/min et une surface d'échange variant de 10 à 40 cm², le taux de transfert de dioxyde de carbone passe de 0,21 à 0,82 ml CO₂/min. **On constate que le dioxyde de carbone est particulièrement dépendant de la surface d'échange du dispositif.**

En conclusion pour une épaisseur de membrane de 15 µm, une hauteur de capillaire de 85 µm, et une surface d'échange supérieure ou égale à 20 cm², le dispositif garantie un échange de gaz suffisant (contrairement à la surface d'échange de 10 cm²). Les résultats montrent que la surface d'échange a un impact très important sur l'échange de gaz, particulièrement sur le taux de transfert de dioxyde de carbone. La surface d'échange actuelle du dispositif modèle III est de 10,71 cm². Si l'on augmente cette surface d'un facteur 2 seulement, les résultats seront bien plus intéressants. Deux solutions s'offrent à nous pour augmenter la surface d'échange à l'avenir, on peut premièrement agrandir la dimension d'une structure tri-couches en surface, en passant par exemple d'une taille 4 pouces à une taille 6 pouces. La nouvelle géométrie des capillaires (hauteur, largeur et longueur) devra être néanmoins étudié pour ne pas augmenter la chute de pression. La deuxième solution serait d'empiler des structures à 5 couches (gaz/membrane/sang/membrane/gaz) en intégrant une membrane en-dessous et au-dessus des capillaires sanguins. Le sang pourra alors être oxygéné sur les deux surfaces opposées des capillaires sanguins. La surface d'échange serait donc multipliée par deux sans augmentation de la chute de pression.

Enfin, comme nous pouvons le voir sur les courbes (fig. 21 (d), fig.22 (d) et fig.23 (d)), **l'utilisation d'un matériau 10 fois plus perméable que le PDMS n'a pas d'impact significatif sur l'échange de gaz dans la gamme de débit sanguin 1-15 ml/min. Il n'est donc pas indispensable de rechercher un matériau plus perméable que le PDMS pour la membrane de diffusion.**

Il convient de mentionner que ces calculs numériques sont valables pour une température de 37°C. Au chapitre 4, les résultats théoriques présentés ici sont comparés aux résultats expérimentaux. Quelques variations peuvent avoir lieu, car la température lors des expérimentations était de 23°C. Les prochaines expérimentations seront réalisées en chauffant continuellement la poche de sang à 37°C pour plus de précisions.

Références bibliographiques du Chapitre 2

- [1] Federspiel, W., & Henchir, K. (2008). Lung, Artificial: Basic Principles and Current Applications. Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering, Second Edition - Four Volume Set, 1661–1672.
- [2] K. Ren, J. Zhou, and H. Wu, “Materials for microfluidic chip fabrication,” *Acc. Chem. Res.*, vol. 46, pp. 2396-2406, 2013.
- [3] D.C. Duffy, J.C. McDonald, O.J.A. Schueller, and G.M. Whitesides, *Analytical Chemistry* 70, 4974–4984 (1998).
- [4] Ferrell, N., Gallego, D., Woodard, J. and Hansford, D. “Fabrication methods for polymers mems”.
- [5] Lin, L., Cheng, Y.-T., & Chiu, C.-J. (1998). Comparative study of hot embossed microstructures fabricated by laboratory and commercial environments. *Microsystem Technologies*, 4(3), 113–116.
- [6] Wei, G., Bhushan, B., Ferrell, N., & Hansford, D. (2005). Microfabrication and nanomechanical characterization of polymer microelectromechanical system for biological applications. *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films*, 23(4), 811–819.
- [7] Zhu, L.-M. (2015). Mesh implants: An overview of crucial mesh parameters. *World Journal of Gastrointestinal Surgery*, 7(10), 226.
- [8] Deshpande, S., & Munoli, A. (2010). Long-term results of high-density porous polyethylene implants in facial skeletal augmentation: An Indian perspective. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 43(1), 34.
- [9] Lowe, A. M., Ozer, B. H., Wiepz, G. J., Bertics, P. J., & Abbott, N. L. (2008). Engineering of PDMS surfaces for use in microsystems for capture and isolation of complex and biomedically important proteins: Epidermal growth factor receptor as a modèle system. *Lab on a Chip*, 8(8), 1357.
- [10] Matsubara, Y., Murakami, Y., Kobayashi, M., Morita, Y., & Tamiya, E. (2004). Application of on-chip cell cultures for the detection of allergic response. *Biosensors and Bioelectronics*, 19(7), 741–747.
- [11] Wu, J. M., Chung, Y., Belford, K. J., Smith, G. D., Takayama, S., & Lahann, J. (2006). A surface-modified sperm sorting device with long-term stability. *Biomedical Microdevices*, 8(2), 99–107.
- [12] Zhou, J., Ellis, A. V., & Voelcker, N. H. (2010). Recent developments in PDMS surface modification for microfluidic devices. *ELECTROPHORESIS*, 31(1), 2–16.
- [13] McDonald, J. C., & Whitesides, G. M. (2002). Poly(dimethylsiloxane) as a Material for Fabricating Microfluidic Devices. *Accounts of Chemical Research*, 35(7), 491–499.
- [14] Alexander, H., Brunski, J. B., Cooper, S. L., Hench, L. L., Hergenrother, R. W., Hoffman, A. S., ... Yannas, I. V. (1996). *Classes of Materials Used in Medicine. Biomaterials Science*, 37–130.
- [15] Kim, S. J., Choi, B., Kim, K. S., Bae, W. J., Hong, S. H., Lee, J. Y., ... Kim, S. W. (2015). The Potential Role of Polymethyl Methacrylate as a New Packaging Material for the Implantable Medical Device in the Bladder. *BioMed Research International*, 2015, 1–8.

- [16] Qin, Y., Howlader, M. M. R., Deen, M. J., Haddara, Y. M., & Selvaganapathy, P. R. (2014). *Polymer integration for packaging of implantable sensors. Sensors and Actuators B: Chemical*, 202, 758–778.
- [17] Rieper, T., Müller, C., & Reinecke, H. (2015). *Novel scalable and monolithically integrated extracorporeal gas exchange device. Biomedical Microdevices*, 17(5).
- [18] Gimbel, A. A., Flores, E., Koo, A., García-Cardena, G., & Borenstein, J. T. (2016). *Development of a biomimetic microfluidic oxygen transfer device. Lab on a Chip*, 16(17), 3227–3234.
- [19] Thompson, A. J., Ma, L. J., Plegue, T. J., & Potkay, J. A. (2018). *Design Analysis and Optimization of a Single Layer PDMS Microfluidic Artificial Lung. IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 1–1.
- [20] Dabaghi, M., Saraei, N., Fusch, G., Rochow, N., Brash, J. L., Fusch, C., & Selvaganapathy, P. R. (2018). *An Ultra-thin Highly Flexible Microfluidic Device for Blood Oxygenation. Lab on a Chip*.
- [21] Dabaghi, M., Saraei, N., Fusch, G., Rochow, N., Brash, J. L., Fusch, C., & Ravi Selvaganapathy, P. (2019). *An ultra-thin, all PDMS-based microfluidic lung assist device with high oxygenation capacity. Biomicrofluidics*, 13(3), 034116.
- [22] Robeson, L. . (1999). Polymer membranes for gas separation. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 4(6), 549–552.
- [23] Cui Z. *Nanofabrication: principles, capabilities and limits*. Berlin: Springer; 2008. ISBN 0387755764.
- [24] Borandeh, S., Abdolmaleki, A., Zamani Nekuabadi, S., & Sadeghi, M. (2018). Methoxy poly (ethylene glycol) methacrylate-TiO₂/poly (methyl methacrylate) nanocomposite: an efficient membrane for gas separation. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 1–14.
- [25] Potkay, J. A. (2013). A simple, closed-form, mathematical modèle for gas exchange in microchannel artificial lungs. *Biomedical Microdevices*, 15(3), 397–406.
- [26] Caro, C. G., Pedley, T. J., Schroter, R., & Seed, W. (1978). *The Mechanics of the Circulation*. Oxford, New York: Oxford University Press
- [27] Ghiringhelli, E. (2014). *Viscoélasticité du sang et du caillot*. Thèse de Doctorat, Université de Grenoble.
- [28] Wang, X. (1990). *Influence de l'agrégation érythrocytaire sur les propriétés mécaniques du sang : application à certaines pathologies*. Thèse de Doctorat, INP de Lorraine, Nancy.
- [29] Chien, S., Usami, S., Skalak, R. (1984) Blood flow in small tube. in: *Handbook of Physiology, Circulation. Section on Microcirculation*, edited by EM Renkin and C Michel. Bethesda, MD: Am physiol Soc, p217.
- [30] Barbee, J. H. (1973). The effect of temperature on the relative viscosity of human blood. *Biorheology*, 10(1), 1–5.
- [31] Merrill, E. (1969). Rheology of blood. *Physiological review*. 49, 863.
- [32] Francais, O., Horsin-Molinard, H. (2016). *Principe physique et mise en œuvre d'écoulements continus*. ENS Cachan. University Paris-Saclay.

- [33] Guyon, E., Hulin, J. P., Petit, L. (2001). Hydrodynamique physique.
- [34] Bruus, H. (2006). Theoretical microfluidics. Department of Micro and Nanotechnology, Technical University of Denmark.
- [35] Hall, J. E. (2011). Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, PA : Saunders, Philadelphia, 12th edn.
- [36] Potkay, J. A. (2014). The promise of microfluidic artificial lungs. *Lab Chip*, 14(21), 4122–4138.
- [37] Pironet, A. (2001). Méthodes d'identification des paramètres dans un modèle du système cardiovasculaire. Mémoire de fin d'étude, Université de Liège, Faculté des Sciences Appliquées, Belgique.
- [38] Windberger, U., Bartholovitsch, A., Plasenzotti, R., Korak, K. J., & Heinze, G. (2003). Whole Blood Viscosity, Plasma Viscosity and Erythrocyte Aggregation in Nine Mammalian Species: Reference Values and Comparison of Data. *Experimental Physiology*, 88(3), 431–440.
- [39] Boucif, N. (2018). Modélisation et simulation de contacteurs membranaires pour les procédés d'absorption de gaz acides par solvant chimique. Thèse de doctorat, INP de Lorraine, Nancy.
- [40] Macron, T. (2012). Conception de Membranes Semi-perméables aux Gaz par Assemblage Dynamique d'Objets Moléculaires et Macromoléculaires. Thèse de Doctorat, ENS Chimie, Montpellier.
- [41] Alexander Stern, S. (1994). Polymers for gas separations : the next decade. *Journal of Membrane Science*, 94(1), 1–65.
- [42] Padet, J. (2010). Principe des transferts convectifs. Chapitre.1, 6-58.
- [43] Weissman, M. H., & Mockros, L. F. (1969). Oxygen and carbon dioxide transfer in membrane oxygenators. *Medical & Biological Engineering*, 7(2), 169–184.
- [44] Weissman, M. H., & Hung, T. K. (1971). Numerical simulation of convective diffusion in blood flowing in a channel with a steady, three-dimensional velocity field. *AIChE Journal*, 17(1), 25–30.
- [45] Hung, T.-K., Borovetz, H. S., & Weissman, M. H. (1977). Transport and flow phenomena in a microchannel membrane oxygenator. *Annals of Biomedical Engineering*, 5(4), 343–361.
- [46] Hewitt, T. J., Hattler, B. G., & Federspiel, W. J. (1998). A Mathematical Modèle of Gas Exchange in an Intravenous Membrane Oxygenator. *Annals of Biomedical Engineering*, 26(1), 166–178.
- [47] Vaslef, S. N., Mockros, L. F., Anderson, R. W., & Leonard, R. J. (1994). Use of a Mathematical Modèle to Predict Oxygen Transfer Rates in Hollow Fiber Membrane Oxygenators. *ASAIO Journal*, 40(4), 990–996.
- [48] Barcroft, J., & Hill, A. V. (1910). The nature of oxyhaemoglobin, with a note on its molecular weight. *The Journal of Physiology*, 39(6), 411–428.
- [49] Mochizuki, M., Takiwaki, H., Kagawa, T., & Tazawa, H. (1983). Derivation of Theoretical Equations of the CO₂ Dissociation Curve and the Carbamate Fraction in the Haldane Effect. *Japanese Journal of Physiology*, 33, 579-599.

- [50] Gros, G., & Moll, W. (1971). The diffusion of carbon dioxide in erythrocytes and hemoglobin solutions. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, 324(3), 249–266.
- [51] Willford, D. C., & Hill, E. P. (1986). Modest effect of temperature on the porcine oxygen dissociation curve. *Respiration Physiology*, 64(2), 113–123.
- [52] U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, “Guidance for Cardiopulmonary Bypass Oxygenators 510(k) Submissions; Final Guidance for Industry and FDA Staff,” November 2000.
- [53] Baele, P., Van Der Linden, P. (2001). Transport de l’oxygène par le sang: notions de transport du CO₂ et des ions hydrogène. Bernard Dalens (ed.), traité d’anesthésie général à mises à jour périodique, Arnette Blackwell.
- [54] Wu, W.-I., Rochow, N., Chan, E., Fusch, G., Manan, A., Nagpal, D., ... Fusch, C. (2013). Lung assist device: development of microfluidic oxygenators for preterm infants with respiratory failure. (*supplementary information*). *Lab on a Chip*, 13(13), 2641.
- [55] Siggaard-Andersen, O., Wimberley, P. D., Fogh-Andersen, N., & Gøthgen, I. H. (1988). Measured and derived quantities with modern pH and blood gas equipment: Calculation algorithms with 54 equations. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 48(sup189), 7–15.
- [56] Le transport du dioxyde de carbone dans le sang. (2018). Site internet: <http://www.mabiologie.com/2018/09/transport-de-dioxyde-de-carbone-sang.html>
- [57] Serianni, R., Barash, J., Bentley, T., Sharma, P., Fontana, J. L., Via, D., ... Mongan, P. D. (2003). Porcine-specific hemoglobin saturation measurements. *Journal of Applied Physiology*, 94(2), 561–566.
- [58] Drieu, C. (2009). *Hématologie en médecine bovine et application à la réalisation d’une transfusion*. Thèse de doctorat. Faculté de médecine de Créteil.
- [59] Myers, G. J. (2014). Understanding Off-Label Use and Reference Blood Flows in Modern Membrane Oxygenators. *The Journal of ExtraCorporeal Technology*, 46(3), 192-196.
- [60] Bacabac, R. G., Smit, T. H., Cowin, S. C., Van Loon, J. J. W. A., Nieuwstadt, F. T. M., Heethaar, R., & Klein-Nulend, J. (2005). Dynamic shear stress in parallel-plate flow chambers. *Journal of Biomechanics*, 38(1), 159–167.
- [61] (2013). Cours ifsi - Biologie fondamentale - le tissu sanguin. Internet, disponible sur : <https://www.infirmiers.com/etudiants-en-ifsu/cours/cours-ifsu-biologie-fondamentale-le-tissu-sanguin.html>
- [62] Rieper, T. (2014). Scalable extracorporeal gas exchange device for medical applications. Thèse de doctorat. Université de Fribourg-en-Brisgau, Allemagne.

Chapitre 3 - Procédés de fabrication des dispositifs

La fabrication d'une structure tri-couches est réalisée en intégrant une fine membrane entre deux modules de PDMS microstructurés, un module de sang et un module de gaz. Toute la structure tri-couches constituée du module de sang, de la membrane et du module de gaz est en PDMS, ce qui évite le défi du collage du PDMS sur d'autres matériaux et ce qui permet d'obtenir un dispositif monolithique.

Une première partie de ce chapitre expose le protocole de fabrication des deux modules microstructurés, et de la fine membrane de PDMS.

Une deuxième partie explique la suite du protocole pour la réalisation d'une structure tri-couches complète. On décrit d'abord la méthode de collage humide mise au point pour sceller la membrane entre les modules de PDMS. Cette méthode est basée sur une fine couche adhésive de PDMS non recuite diluée dans de l'hexane. Cette partie s'achève avec l'intégration et le scellement de la membrane en utilisant la méthode de collage décrite précédemment, qu'on appelle collage humide PDMS/hexane ; puis la mise en place des connecteurs fluidiques aux entrées et sorties du sang et du gaz d'oxygénation. Par la suite, la structure tri-couches est prête à être utilisée sans aucune autre étape de post-traitement.

Dans la troisième partie, nous détaillerons le protocole qui permet d'empiler plusieurs structures tri-couches en parallèle. Pour rappel, il est important de pouvoir réaliser cet empilement afin d'augmenter simultanément la surface d'échange et le débit sanguin afin de se rapprocher des normes cliniques en termes de transfert de gaz.

Et enfin une quatrième et dernière partie présente les premiers tests fluidiques réalisés, notamment des tests d'étanchéités et de pressions réalisés sur des structures tri-couches afin d'évaluer la fiabilité de la nouvelle méthode de collage proposée.

I – Protocole de fabrication des modules microstructurés et de la fine membrane de PDMS

I.1 – Le développement des moules en photolithographie

Les moules sont réalisés en utilisant la technique de la photolithographie. C’est au cours de cette étape que les géométries représentant les capillaires sanguins et les microcanaux d’oxygénation sont transformés en véritables microcanaux sur deux moules distincts (un moule de sang et un moule de gaz). Les microcanaux fabriqués en relief sur chacun des moules permettront par la suite d’obtenir des répliques creusées dans le PDMS, formant ainsi les modules de sang et de gaz.

Il y a 3 principales étapes en photolithographie : l’enrésinement, l’insolation et le développement. L’enrésinement (ou l’enduction) consiste à étaler sur un substrat en silicium une couche de résine photosensible de façon uniforme et contrôlée. L’insolation consiste à exposer la résine photosensible à un rayonnement de lumière UV en masquant la lumière au moyen d’un masque. Le masque UV est en général constitué d’une lame de quartz transparent et porteuse des motifs absorbants (le plus souvent les motifs sont en chrome). Pour notre application, nous utilisons une résine photosensible négative, c’est-à-dire que les zones de la résine insolées aux UV réticulent et restent sur la plaque de silicium. A noter que l’on procède à un recuit de la résine avant l’insolation (que l’on appelle pré-recuit) et à un recuit après l’insolation (que l’on appelle post-recuit). Par la suite, le développement consiste à révéler les motifs pour dissoudre la résine photosensible qui n’a pas été insolée.

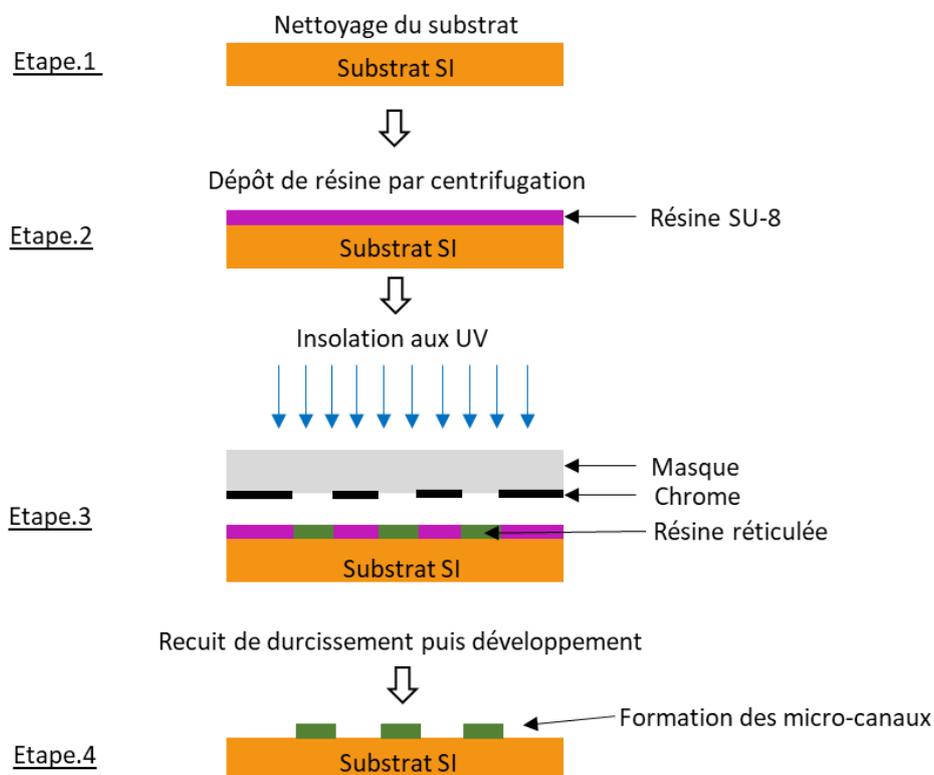


Figure 3.1. Etapes de fabrication des moules en utilisant la technique de la photolithographie.

Les différentes étapes du protocole de photolithographie, schématisées sur la figure 3.1, sont décrites en détail ci-dessous :

1. La première étape est le nettoyage du substrat (voir l'étape 1 de la figure 3.1). La plaque de silicium est d'abord plongée dans un bécher d'isopropanol pendant 1 min. Elle est ensuite plongée dans un autre bécher rempli avec un tiers d'acétone, puis l'ensemble est mis dans une machine à ultrasons avec les paramètres suivants : 37 kHz et 30% de puissance, pendant 3 min. Cette étape sert à éliminer les résidus sur le substrat. La plaque de silicium est ensuite sortie du bécher, rincée à l'acétone puis à l'isopropanol et enfin séchée par de l'azote gazeux.
2. La deuxième étape est l'enduction d'une résine photosensible sur la plaque de silicium (voir l'étape 2 de la figure 3.1). Les résines photosensibles peuvent être classées en trois types : positive, négative et réversible. Une résine photosensible positive est celle où les zones exposées seront dissoutes dans la solution de développement, générant ainsi la même géométrie de motifs que celle du masque. Au contraire, une résine photosensible négative est une résine pour laquelle les zones exposées deviennent quasiment insolubles dans le développeur en raison de la réticulation. Comme son nom l'indique, la résine photosensible réversible est celle qui a la propriété de changer sa polarité après un recuit ou un flux d'irradiation. La résine que nous utilisons est la résine négative SU-8, qui permet de réaliser des motifs d'une épaisseur comprise entre quelques micromètres et quelques centaines de micromètres. Avant l'enrésinement, le substrat est déshydraté sur une plaque chauffante pendant 15 min à une température de 150°C. Cela permet d'améliorer l'adhérence de la résine sur la plaque de silicium. La résine SU-8 est déposée au centre du substrat en silicium, qui a été préalablement posé sur une tournette, et maintenu en place par un vide. La rotation de la tournette va permettre d'étaler la résine par centrifugation de manière uniforme. La vitesse, l'accélération et la durée de rotation détermine l'épaisseur de la résine. Cette technique est communément appelé « spin-coating ». **Au cours de cette thèse, la plupart des moules ont été conçus avec des épaisseurs de résine allant de 35 à 85 et 105 μm . Ces épaisseurs correspondent à la hauteur des microcanaux, des deux moules de sang ou de gaz. J'ai choisi de fixer la même hauteur pour les microcanaux des deux modules.** Les moules d'une épaisseur de 35 μm ont été réalisés avec une résine SU-8 3050 (gamme d'épaisseur entre 35 et 110 μm [26]), et les moules d'une épaisseur de 85 et 105 μm ont été réalisés avec une résine SU-8 2050 (gamme d'épaisseur entre 40 et 170 μm [27]).

Les paramètres de développement du moule (tournette, temps de pré-recuit, temps d'insolation, temps de post-recuit et temps de développement) utilisés pour chacune des épaisseurs sont donnés dans le tableau 3.1. Selon l'épaisseur de résine, il est parfois nécessaire de laisser un temps « de repos » entre le « spin-coating » et le pré-recuit. En effet, pour les épaisseurs de 85 et 105 μm , des effets de bords apparaissent et provoquent une surépaisseur sur la partie externe du substrat en silicium. Cela peut créer un mauvais contact entre le masque et la résine SU-8, au moment de l'insolation, et par conséquent réduire la résolution des motifs. Afin d'atténuer ces effets, un temps de repos de 45 min à 1h entre le « spin-coating » et le pré-recuit permet d'atténuer significativement les effets de bords et d'homogénéiser l'épaisseur de résine. Vient ensuite le pré-recuit. Le substrat et la résine sont placés sur des plaques chauffantes de 65°C puis de 95°C, premièrement pour évaporer les solvants présents dans la résine et deuxièmement pour solidifier la résine afin de pouvoir la mettre en contact avec le masque lors de la prochaine étape : l'insolation. Le pré-recuit est réalisé en deux étapes : 65°C puis 95°C afin de réduire les contraintes au sein de la couche de résine. La durée des recuits est variable selon l'épaisseur de la résine (voir tableau 3.1). En ce qui concerne l'homogénéité de l'épaisseur de la résine, celle-ci est dépendante non seulement de la qualité de l'enduction de la résine (paramètres de tournette appropriés, horizontalité du support de la plaque de silicium, limitation des bulles d'air au moment

du dépôt de la résine etc...) mais également de l'horizontalité des plaques chauffantes pendant la phase de pré-recuit et de l'horizontalité de la surface sur laquelle on dépose le substrat pendant le temps « de repos ».

3. L'insolation aux ultraviolets (UV) est l'étape qui va permettre de retranscrire les motifs dans la résine (voir l'étape 3 de la figure 3.1). Les motifs correspondent à la géométrie des capillaires sanguins pour le moule de sang et à la géométrie des microcanaux d'oxygénation pour le moule de gaz. Chacune des géométries a été générée avec le logiciel L-edit, puis retranscrite sur un masque en quartz transparent recouvert de chrome opaque. Le masque de sang et le masque de gaz, correspondant à la géométrie du modèle III sont présentés sur la figure 3.2. Les parties chromées vont arrêter les rayons UV, alors que les zones uniquement en quartz vont laisser passer ce rayonnement. La réalisation du masque a été sous-traitée auprès de la centrale technologique du LAAS. Une insolation UV est réalisée au travers du masque comme indiqué dans la figure 3.1. La résine se modifie chimiquement en présence des rayons UV sous la zone transparente du masque (correspondant aux motifs des microcanaux), tandis qu'elle reste non modifiée dans les zones correspondant au chrome. Au moment de l'insolation, le masque et la résine sont directement en contact l'un avec l'autre, avec un vide créé entre les deux (mode vacuum contact) afin d'obtenir la meilleure définition possible des motifs.

Le temps d'exposition aux UV dépend de l'épaisseur de la résine et de la dose d'exposition (voir tableau 3.1). Plus précisément, l'énergie requise pour une épaisseur de résine (en mJ/cm^2) est égale à l'intensité de la lampe (en mW/cm^2) multiplié par le temps d'exposition (en secondes). Pour les épaisseurs de 35, 85 et 105 μm , l'énergie requise est respectivement d'environ 185, 215 et 240 mJ/cm^2 [26,27]. Il convient de vérifier les temps d'exposition, car une surexposition ou une sous-exposition entraîne une perte de résolution des structures.

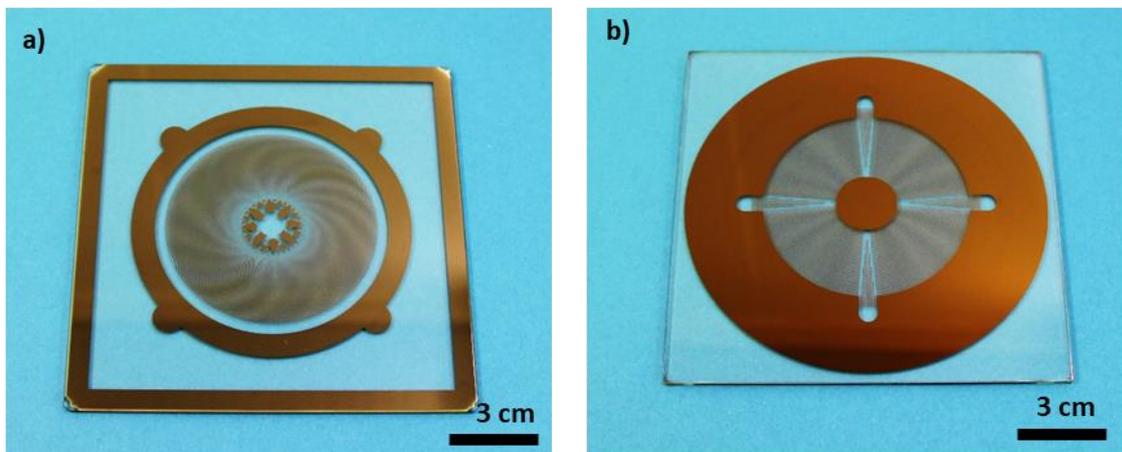


Figure 3.2. Photos du masque de sang (a) et du masque de gaz (b) correspondant à la géométrie du modèle III (modèle le plus récent, voir partie I du chapitre 2). On peut observer que les parties transparentes des masques correspondent aux motifs des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation.

J'ai effectué ces lithographies aux UV, sur deux équipements équivalents : l'équipement d'alignement et d'exposition semi-automatique Suss Microtec MA6/BA6 du C2N (Lampe 350W, $\lambda = 320 \text{ nm}$) et l'équipement d'alignement et d'exposition semi-automatique MA1006 simple face (K&W) (Lampe 350W Hg Exposition Broadband) de l'ESIEE. En effet, pendant la période de déménagement du C2N sur le nouveau site de Palaiseau, j'ai poursuivi mes travaux de microfabrication dans la centrale de l'ESIEE (en 2019). Ces deux équipements permettent de réaliser des lithographies sur de grandes surfaces (jusqu'à 6 pouces) avec une bonne résolution et une bonne homogénéité des motifs. La figure 3.3 ci-dessous présente deux photographies de ces

équipements. Il faut mentionner que les paramètres de fabrication présentés dans le tableau 3.1 correspondent aux moules réalisés avec l'équipement d'alignement et d'exposition semi-automatique MA1006 de l'ESIEE, là où j'ai fabriqué la plupart des moules des modèles III et IV.

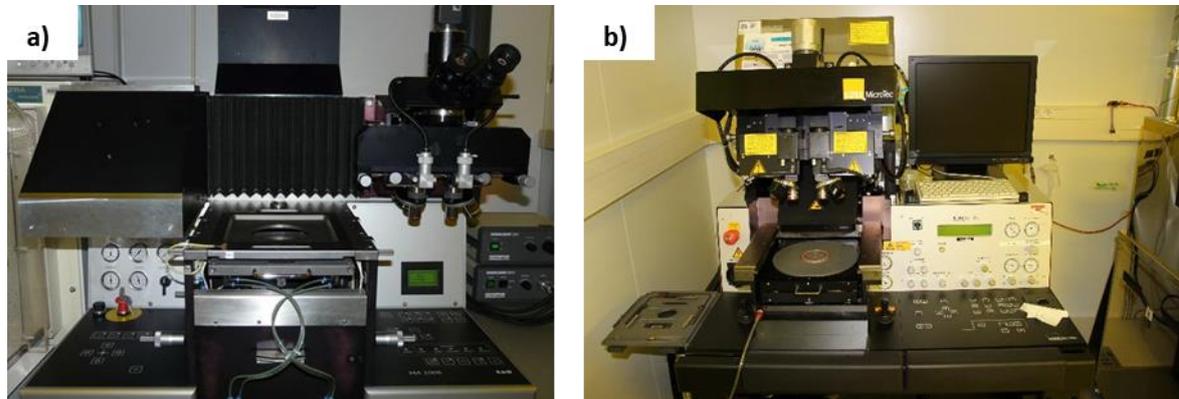


Figure 3.3. Photo des équipements de photolithographie utilisés au cours de cette thèse : (a) l'équipement de photolithographie MA1006 BSA de l'ESIEE et (b) l'équipement de photolithographie MA6/BA6 du C2N.

Après exposition, la résine doit subir un autre recuit, qu'on appelle post-recuit, à une température de 65°C puis de 95°C à des temps qui dépendent de l'épaisseur (voir tableau 3.1). Cette étape de post-recuit permet d'évaporer les restes de solvant, de compléter la polymérisation et de durcir la résine, la rendant ainsi plus adhérente au substrat.

4. Le développement constitue la dernière étape de réalisation d'un moule en photolithographie (voir l'étape 4 de la figure 3.1). Le substrat et la résine sont plongés dans le développeur spécifique de la résine SU-8 sous agitation et pendant un temps déterminé suivant l'épaisseur de la résine (voir tableau 3.1). Cela permet de dissoudre la résine non exposée. En conséquence, une image négative du modèle du masque est reproduite sur le substrat. Il faut bien ajuster le temps de développement car un surdéveloppement provoque un gonflement des zones réticulées et un décollement des motifs. Le développement est suivi par un rinçage à l'isopropanol puis à l'eau DI et enfin un séchage sous flux d'azote gazeux. Nous obtenons ainsi un moule avec une réplique en résine des motifs qui étaient présent sur le masque. La figure 3.4 montre deux moules de sang et de gaz (modèle III) réalisés en photolithographie.

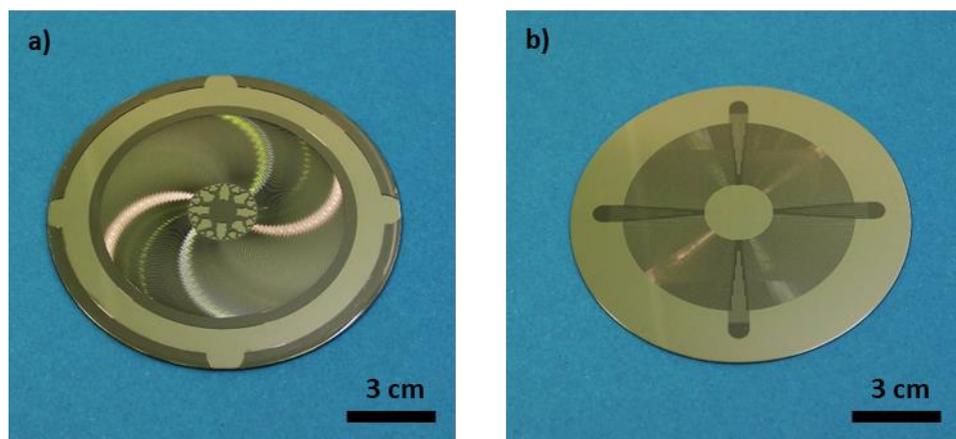


Figure 3.4. Photos du moule de sang (a) et du moule de gaz (b) réalisés en photolithographie, en utilisant les masques présentés figure 2. La hauteur des motifs ici est de 85 μm .

À la suite du procédé de photolithographie, le moule est caractérisé pour vérifier la géométrie des motifs et s'assurer de la bonne qualité du résultat. Premièrement, le microscope optique permet d'observer la résolution et la définition des microcanaux et de s'assurer que toute la résine non exposée a bien été éliminée. Il est également possible de déterminer la largeur des microcanaux. Deuxièmement, la hauteur des microcanaux est mesurée systématiquement à l'aide d'un profilomètre mécanique (Dektak 150). Enfin, éventuellement, les motifs peuvent être observés au Microscope Electronique à Balayage (MEB), qui permet de mesurer avec une grande précision la largeur et la hauteur des microcanaux, de vérifier la verticalité des murs et de visualiser la rugosité de surface. La plupart du temps nous utilisons uniquement le microscope optique et le profilomètre mécanique pour caractériser les moules. Pour notre application, la précision du MEB n'est pas indispensable.

A titre d'exemple, nous pouvons observer ci-dessous des images obtenues par microscopie optique (figure 3.5) et par profilométrie mécanique (figure 3.6) à différents endroits des moules de sang ou de gaz. On remarque sur la figure 3.5 que les microcanaux sont bien définis et qu'ils correspondent bien à la largeur attendue. Il n'y a pas de trace de résine non exposée entre les microcanaux. Sur la figure 3.6, on peut voir une analyse par profilométrie mécanique de la hauteur des microcanaux d'un moule de sang, dont la hauteur attendue est de 85 μm . Après avoir réalisé des mesures à différents endroits du moule, on note une variation de la hauteur des motifs de $\pm 1 \mu\text{m}$.

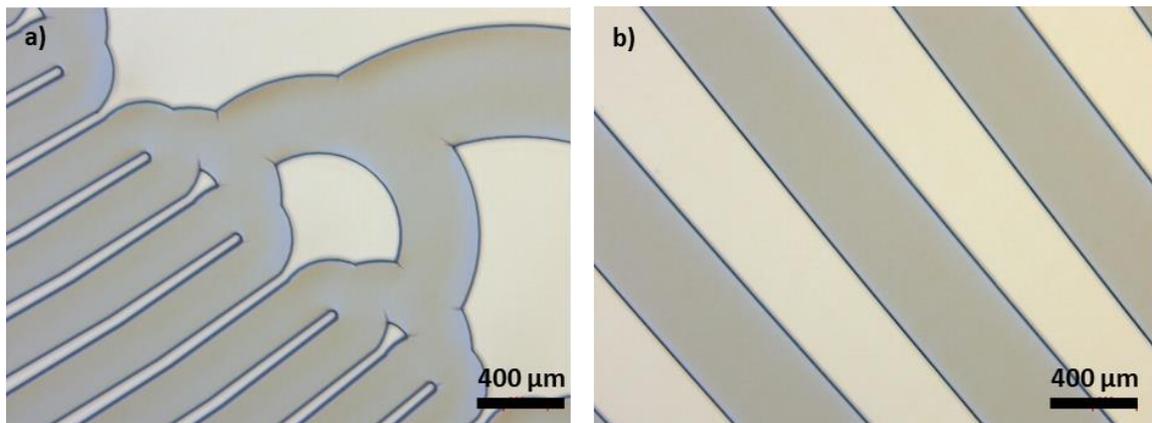


Figure 3.5. Photos du moule de sang (a) et de gaz (b) réalisées au microscope optique. On peut voir que les microcanaux sont bien définis et que la résine SU-8 entre les motifs est complètement éliminée. A noter que la hauteur des motifs ici est de 85 μm .

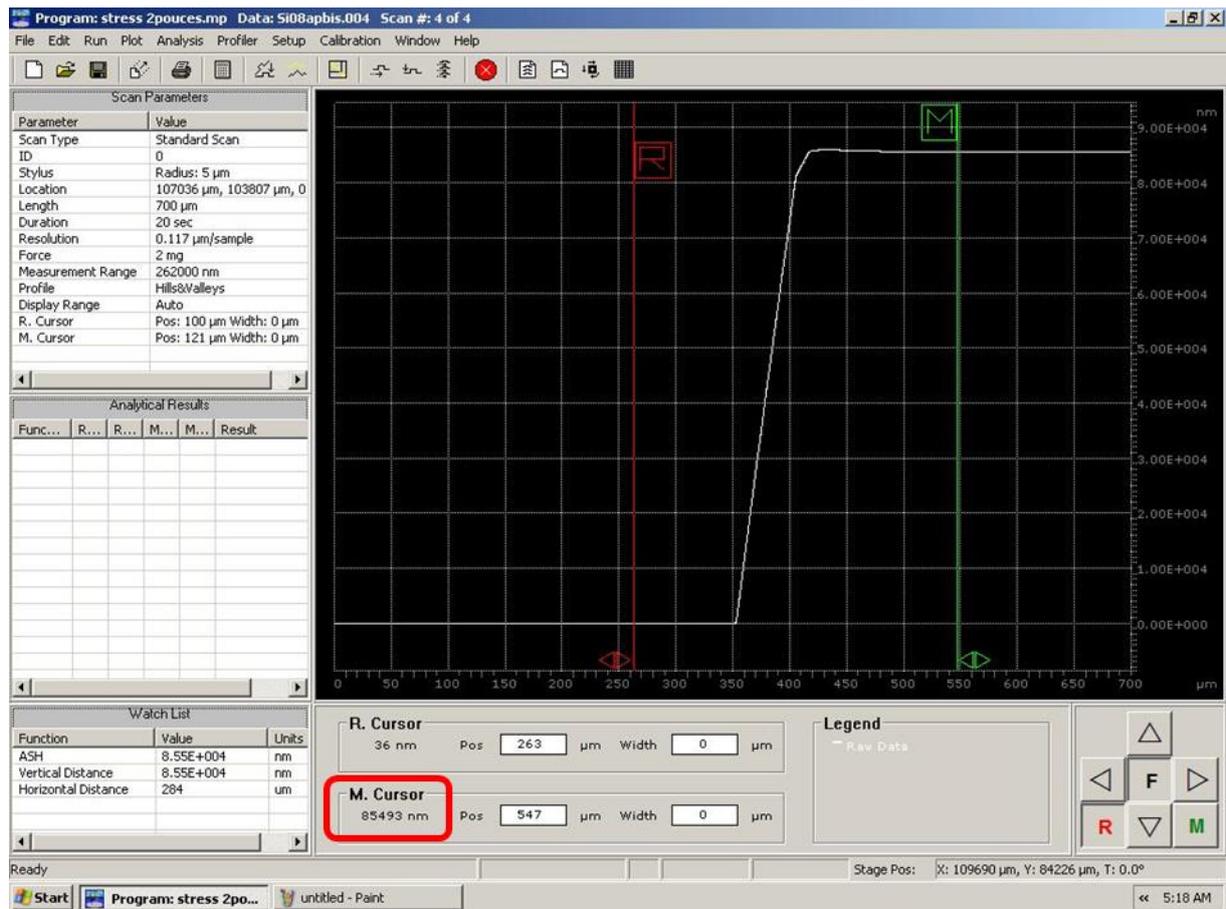


Figure 3.6. Photo d'une analyse par profilométrie mécanique d'un moule de sang dont la hauteur des motifs est de 85 μm. La partie encadrée en rouge montre la hauteur mesurée des motifs.

Hauteurs des micro-canaux : 35 μm / résine SU-8 3050

Tournette			Temps de pré-recuit (min)		Temps d'insolation (s)	Temps de post-recuit (min)		Temps de développement (min)
Accélération (tr/min/s)	Vitesse (tr/min)	Temps (s)	65°C	95°C	Puissance de la lampe : 5,5 mW/cm ²	65°C	95°C	
300	500	5	2	10		33	2	
300	4000	30						

Hauteurs des micro-canaux : 85 μm / résine SU-8 2050

Tournette			Temps de pré-recuit (min)		Temps d'insolation (s)	Temps de post-recuit (min)		Temps de développement (min)
Accélération (tr/min/s)	Vitesse (tr/min)	Temps (s)	65°C	95°C	Puissance de la lampe : 5,5 mW/cm ²	65°C	95°C	
300	500	5	8	15		39	5	
300	2000	30						

Hauteurs des micro-canaux : 105 μm / résine SU-8 2050

Tournette			Temps de pré-recuit (min)		Temps d'insolation (s)	Temps de post-recuit (min)		Temps de développement (min)
Accélération (tr/min/s)	Vitesse (tr/min)	Temps (s)	65°C	95°C	Puissance de la lampe : 5,5 mW/cm ²	65°C	95°C	
300	500	5	5	25		45	5	
300	1700	30						

Tableau 3.1. Paramètres utilisés en photolithographie pour obtenir les hauteurs de microcanaux suivantes : 35, 85 et 105 μm .

I.2 - L'élaboration des modules de PDMS microstructurés

Le PDMS est préparé à partir d'un mélange d'une base prépolymère et d'un agent réticulant. La base prépolymère est constituée de chaîne de polyméthylsiloxane tandis que l'agent réticulant est une solution de copolymère de methylhydrosiloxane et de diméthylsiloxane et d'un catalyseur organométallique [1]. Lorsque le mélange est soumis à la température de recuit, une réaction d'hydrosilylation permet de former le PDMS solide (figure 3.7). La proportion d'agent réticulant détermine les propriétés élastiques et mécaniques du PDMS. Plus il y a d'agent réticulant, moins le PDMS est élastique.

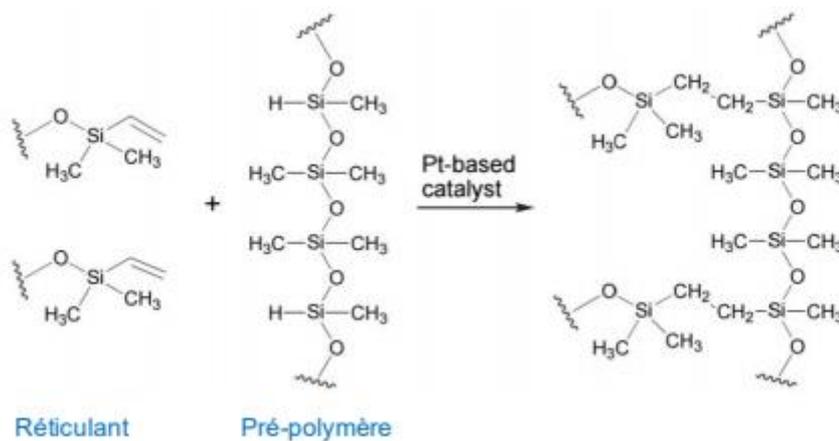


Figure 3.7. Réaction de l'agent réticulant et du prépolymère formant le PDMS (Campbell et coll., 1999 [1]).

Dans notre cas, on réalise le mélange des deux composants (base prépolymère et agent réticulant) avec un ratio 10:1 en masse afin d'obtenir le PDMS le plus flexible possible [2,3]. La préparation est ensuite placée dans un mélangeur pendant 30 secondes pour obtenir un mélange homogène. La figure 3.8 schématise les étapes de fabrication des modules microstructurés (modules de sang et de gaz). Tout d'abord, le PDMS liquide est versé sur les moules réalisés précédemment, puis l'ensemble est dégazé à l'aide d'une cloche à vide pendant 2 heures. A noter que la quantité de PDMS liquide versé sur chaque moule est contrôlée afin d'obtenir une épaisseur de module d'environ 5 mm. Enfin, le moule et le PDMS liquide sont mis en étuve à 60 °C pendant une nuit pour laisser le PDMS réticuler (voir l'étape 1 de la figure 3.8).

Une fois le PDMS durci, on peut le démouler facilement grâce à l'élasticité et à la faible énergie libre de surface du PDMS [4] (voir l'étape 2 de la figure 3.8). On termine en perçant des trous manuellement, à l'aide d'un emporte-pièce d'un diamètre de 6 mm, au niveau de l'entrée et des sorties du sang pour le module de sang et au niveau des entrées et des sorties du gaz d'oxygénation pour le module de gaz (voir l'étape 3 de la figure 3.8). La figure 3.9 illustre la réalisation d'un module de sang et d'un module de gaz (les moules utilisés sont ceux présentés figure 3.4). A noter que dans une structure tri-couches la hauteur des microcanaux d'oxygénation est toujours la même que celle des capillaires sanguins.

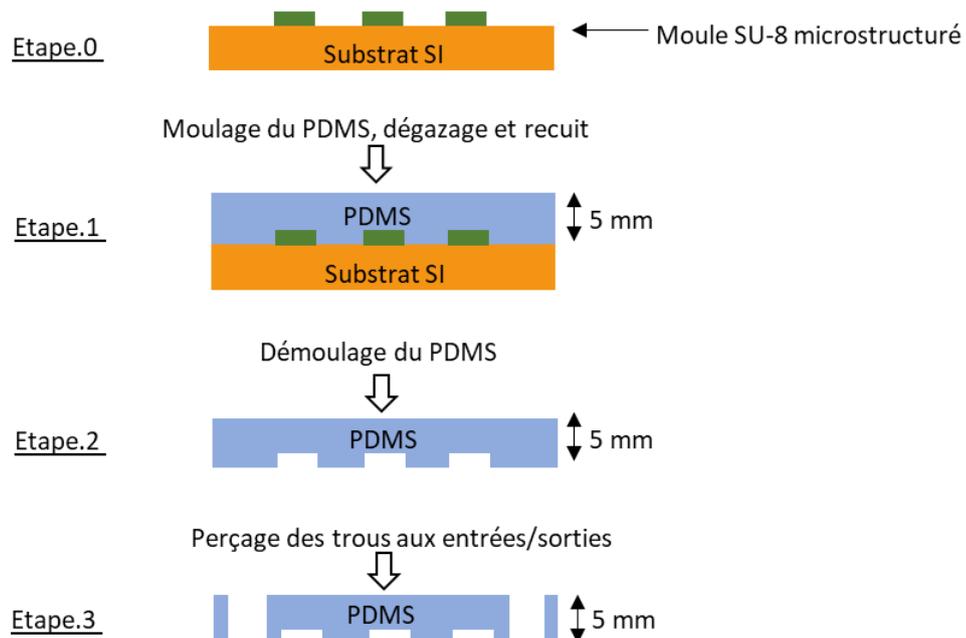


Figure 3.8. Etapes de fabrication d'un module microstructuré de PDMS.

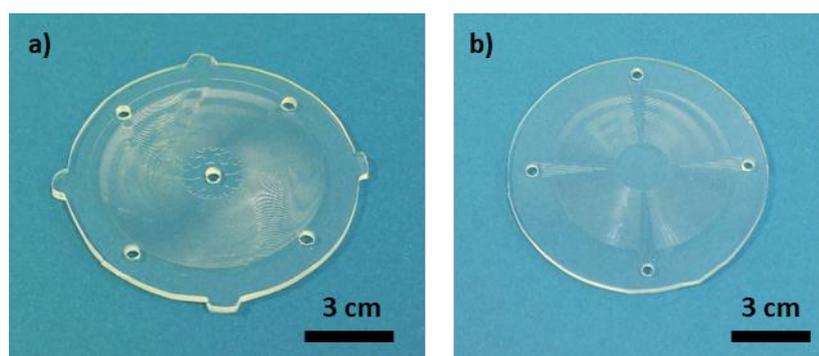


Figure 3.9. Photos d'un module de sang (a) et d'un module de gaz (b) réalisé comme expliqué figure 3.8. Les moules utilisés sont ceux présentés sur la figure 3.4. La hauteur (ou la profondeur) des motifs est de 85 μm .

I.3 – La réalisation d’une membrane fine de PDMS

I.3.1 – Traitement anti-adhésif des substrats

Le PDMS peut être moulé mais il peut également être déposé par enduction centrifuge (ou « spin-coating ») sur des substrats en silicium pour former des membranes très fines (jusqu’à 8 μm d’épaisseur). Nous appliquons au préalable un traitement anti-adhésif chimique sur la surface de silicium afin d’abaisser l’énergie de surface du substrat. Le but est de pouvoir retirer la fine membrane de la plaque de silicium le plus facilement possible, sans risquer de la déchirer. Nous utilisons pour cela de l’optool DSX, particulièrement utilisé en nano-fabrication, et permettant de greffer des monocouches fluorées en surface du substrat [6]. Le greffage est possible grâce au groupement silane. Après hydrolyse, il y a une condensation entre le silane et les liaisons hydroxyles pendantes. Ainsi, il s’établit une liaison covalente avec la surface du silicium [7,8]. Ce procédé est expliqué sur la figure 3.10. La taille des chaînes fluorées peut atteindre une dizaine de nanomètres après greffage [8], ce qui n’est pas dérangeant pour notre application, car les membranes ont une épaisseur de l’ordre de la dizaine de micromètres.

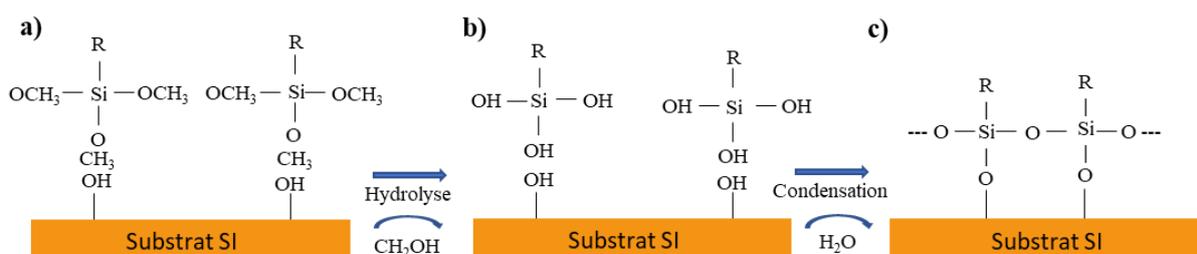


Figure 3.10. Mécanisme de greffage de silanes sur un substrat en silicium. (a) Premièrement une physisorption, puis (b) l’eau initie une réaction d’hydrolyse conduisant à la formation de groupes silanols Si(OH)_3 et enfin (c) une réaction de condensation permet un greffage covalent ainsi qu’une réticulation des molécules entre elles [7].

Le protocole expérimental pour réaliser le traitement chimique des substrats est décrit par Truffier-Boutry *et coll.* [9]. Il consiste premièrement à diluer de l’optool à 1% en volume dans le solvant perfluorohexane, puis à immerger la plaque de silicium dans cette solution pendant 1 minute en couvrant le bécher avec du film étirable. On laisse ensuite la plaque de silicium au bain marie à une température comprise entre 60 et 65°C pendant 1h le temps que le greffage s’opère. Enfin le substrat est rincé dans le solvant perfluorohexane pendant 10 min afin d’éliminer l’excès de produit. Cela permet une augmentation importante du caractère hydrophobe du silicium et permet de décoller les fines membranes de PDMS sans difficulté ni déchirement.

I.3.2 – Calibration de l’épaisseur de la membrane

L’objectif de notre étude est de réaliser des membranes avec une épaisseur assez fine pour laisser facilement passer l’oxygène et le dioxyde de carbone, mais qui restent pour autant manipulables et résistantes mécaniquement. La membrane ne doit en aucun cas se déchirer dans le dispositif, car cela engendrerait une fuite du sang dans le module de gaz.

L'épaisseur de la membrane dépend de la viscosité du matériau (PDMS), et de la vitesse et de la durée de rotation de la tournette [5].

En utilisant un ratio prépolymère/réticulant de 10:1 en masse, l'épaisseur de la membrane en fonction de la vitesse de rotation est présentée figure 3.11. La durée de rotation et l'accélération sont maintenues fixes avec des valeurs respectives de 60 secondes et 300 tours/min/s. Les épaisseurs de PDMS sont mesurées à l'aide d'un profilomètre mécanique (Dektak 150). Nous pouvons noter que l'épaisseur de membrane minimum est de 8 μm (pour une vitesse de rotation de 8000 tours par minute).

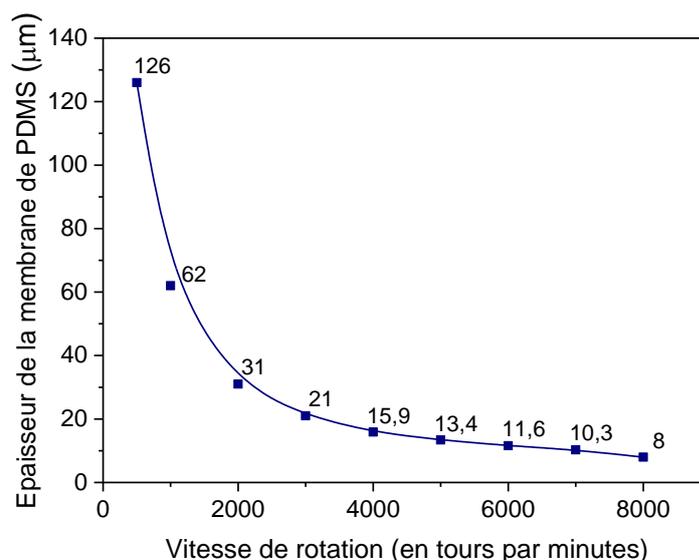


Figure 3.11. Calibration de l'épaisseur de la membrane de PDMS en fonction de la vitesse de rotation (pour un temps maintenu à 60 secondes et une accélération de 300 tours/min/s).

Nous remarquons d'un point de vue expérimental qu'en dessous de 10 μm d'épaisseur, la membrane de PDMS devient difficilement manipulable. Dans ce contexte, nous avons choisi de travailler avec des membranes de 15 μm d'épaisseur, car à partir de cette valeur les risques de déchirement lors de la fabrication sont très faibles. **Rappelons que, d'après nos calculs numériques du chapitre 2, 15 μm est une épaisseur satisfaisante pour l'échange de gaz.** Etant donné les débits sanguins avec lesquels nous travaillons, il ne serait pas utile de travailler avec des épaisseurs de membranes plus faible. La limite d'oxygénation étant la vitesse de diffusion de l'oxygène et du dioxyde de carbone dans le sang, pour une surface d'échange fixe.

Pour réaliser la membrane, une solution de PDMS est déposée sur une plaque de silicium traité à l'optool par enduction centrifuge en utilisant les paramètres suivants : accélération : 300 tours/min/s, vitesse de rotation : 4000 tours/min et durée de rotation : 60 secondes. L'ensemble est ensuite mis en étuve à 60°C pendant 4 heures pour laisser la membrane de PDMS réticuler. A noter qu'il faut toujours poser la plaque de silicium sur une surface plane et horizontal à l'intérieur de l'étuve pour que l'épaisseur de la membrane soit homogène.

II – Fabrication du dispositif tri-couches de grande surface

II.1 – Etat de l’art du collage irréversible PDMS/PDMS

Il existe dans la littérature 5 types de collages connus en microfluidique pour sceller de manière irréversible deux surfaces de PDMS : le plasma oxygène, la décharge corona, l’utilisation d’une couche fine adhésive de PDMS non recuite, le recuit partiel et la variation du ratio prépolymère/réticulant. Parmi ces collages, tous présentent des avantages et des inconvénients et ne conviennent pas forcément pour toutes les applications. Edding *et coll.* [10] présente une comparaison de ces collages par rapport à la force d’adhésion, comme le montre la figure 3.12. Les collages qui apportent le plus de force d’adhésion entre deux surfaces de PDMS sont le recuit partiel et la couche fine adhésive de PDMS non recuite (environ 650 kPa), tandis que les collages qui apportent le moins de force d’adhésion sont le plasma oxygène et le décharge corona (environ 350 kPa).

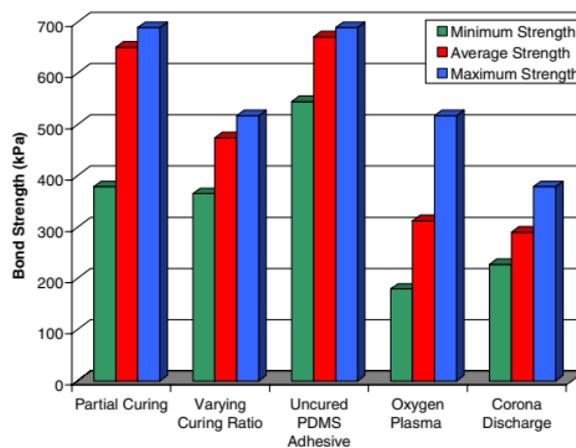


Figure 3.12. Comparaison des forces d’adhésion des 5 collages les plus connus en microfluidique pour les surfaces PDMS/PDMS (Edding *et coll.* 2008 [10]).

Même si c’est un paramètre important, la force d’adhésion n’est pas le seul critère à considérer dans notre application. Tout d’abord, le protocole de collage doit être simple, peu coûteux et rapide à réaliser. Ces conditions sont nécessaires pour être capable d’empiler et de tester le plus possible de structures tri-couches au cours de cette étude, mais également pour envisager l’industrialisation du dispositif. Enfin, le protocole de collage ne doit pas altérer la perméabilité et la biocompatibilité du PDMS. Tout contact avec des matériaux non biocompatibles pourrait faire réagir le sang et empêcher les cellules d’adhérer sur la surface.

La technique de collage par recuit partiel consiste à utiliser des échantillons de PDMS qui ne sont pas complètement réticulés. Nous mettons en contact les deux surfaces, puis nous laissons l’ensemble en étuve à 60°C pour terminer la réticulation [11]. Si cette technique est simple et rapide, ce protocole n’est pas vraiment reproductible, car la force d’adhésion varie beaucoup d’un collage à un autre. Ce protocole est d’autant plus compliqué, si les deux échantillons ont des épaisseurs très différentes, qui nécessiteront des temps de recuit différents. Dans le cas de nos travaux, il serait très difficile de contrôler la vitesse de réticulation d’une membrane aussi fine que 15 µm. Cette méthode ne peut donc pas être utilisée.

Une autre méthode consiste à faire varier le ratio prépolymère/réticulant d'un des deux échantillons de PDMS par rapport à l'autre [12]. Ainsi, l'une des surfaces possède un excès d'agent réticulant n'ayant pas réagi, tandis que l'autre présente encore des sites libres où la réticulation n'a pas eu lieu. Les deux surfaces sont mises en contact pendant que l'agent réticulant en excès se diffuse et réagit avec les sites disponibles. L'ensemble est ensuite mis en étuve à 60°C pour terminer la réticulation. Le problème majeur est la différence des propriétés mécaniques entre les deux échantillons de PDMS. Cette méthode n'est pas utilisable pour notre application, car le dispositif doit être flexible et doit posséder les mêmes propriétés mécaniques pour toutes les couches de PDMS (module de sang, membrane et module de gaz).

Les collages de type plasma oxygène [13-16] et décharge corona [17] reposent sur une activation en surface du PDMS. Après exposition des surfaces, cela induit une oxydation superficielle du PDMS en produisant des fonctions silanols Si-OH. Lorsque les deux surfaces activées sont mises en contact, ces fonctions se condensent, avec élimination d'eau, pour former des liaisons covalentes Si-O-Si (voir figure 3.13). Après la mise en contact, un recuit en étuve permet de catalyser la réaction de manière thermique. Malgré un protocole plutôt simple à réaliser, Markov *et coll.* [18] montrent que l'oxydation superficielle du PDMS peut induire une modification des propriétés de perméabilité du PDMS, avec une restauration plus ou moins complète des propriétés initiales au bout de quelques jours [18,19]. De plus, l'activation des grandes surfaces de plus de plusieurs cm² est difficile, conduisant à des collages non homogènes et donc peu reproductibles.

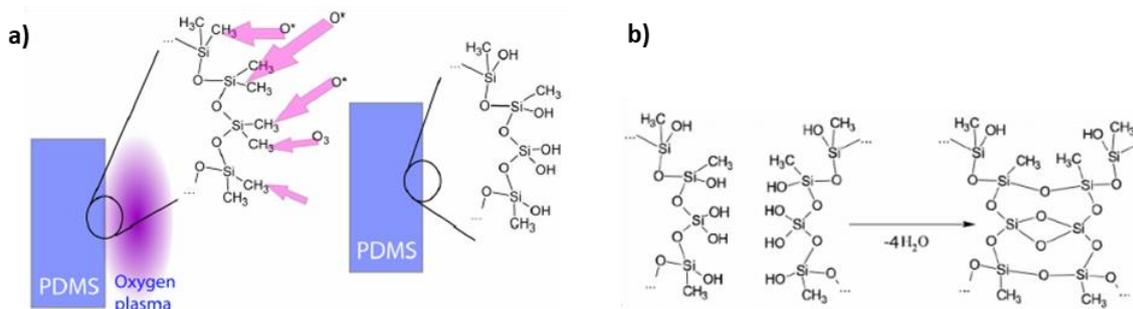


Figure 3.13. Principe du collage de deux surfaces de PDMS en utilisant un collage plasma oxygène : (a) oxydation d'une surface de PDMS par plasma oxygène, générant des fonctions silanols ; (b) condensation de ces fonctions pour former des liaisons covalentes à l'interface PDMS/PDMS [20].

Enfin la dernière méthode est l'utilisation d'une couche fine adhésive de PDMS non recuite [21,22]. Cette technique est basée sur la micro-impression douce par contact. Une solution de PDMS est déposée sur un substrat en silicium par induction centrifuge afin d'obtenir une fine couche de PDMS. Le premier échantillon est tamponné sur la fine couche de PDMS non recuite puis mis en contact avec son homologue. Un recuit en étuve de 2 heures à 60°C permet de réticuler la fine couche de PDMS entre les deux surfaces et de créer un collage irréversible entre les deux échantillons. Cette dernière méthode semble la plus appropriée pour notre application car elle présente non seulement une force d'adhésion très importante d'après Edding *et coll.* [10] (figure 3.12), mais aussi un protocole simple à réaliser qui n'engendre pas de contamination, ni de modification du PDMS. Le seul inconvénient de cette méthode est que si l'épaisseur de la couche de PDMS non recuite est trop épaisse, cela peut boucher les microcanaux du module de sang et de gaz (particulièrement les plus petits microcanaux d'une hauteur de 35 µm).

II.2 – Optimisation du collage humide d'une fine couche adhésive de PDMS non recuite par dilution dans de l'hexane

La méthode d'une couche mince de PDMS non recuite semble donc la plus adaptée pour notre application. Avec une composition de PDMS classique d'un ratio prépolymère/réticulant de 10:1 en masse, il est très difficile d'obtenir des couches de PDMS d'une épaisseur inférieure à 8 μm (voir figure 3.11). Une épaisseur de 1 ou 2 μm serait plus adéquat pour notre application. Selon la littérature, des couches très fines de PDMS allant jusqu'à 70 nm [23,24], peuvent être obtenue en diluant le PDMS avec un solvant tel que l'hexane [23-25]. L'utilisation la plus connue est la création et l'intégration de membranes de PDMS très fines, mais très peu d'études utilisent cette couche mince non recuite pour le collage des surfaces PDMS/PDMS. C'est pourquoi nous avons cherché à diluer le PDMS dans de l'hexane à différents ratios, puis à déposer ces solutions diluées sur des substrats en silicium par enduction centrifuge. La calibration en épaisseur des couches en fonction du ratio PDMS/hexane est illustrée sur la figure 3.14. L'accélération, la vitesse et la durée de la rotation de la tournette ont été maintenues constantes à 300 tours/min/s, 3000 tours/min et 30 secondes, respectivement.

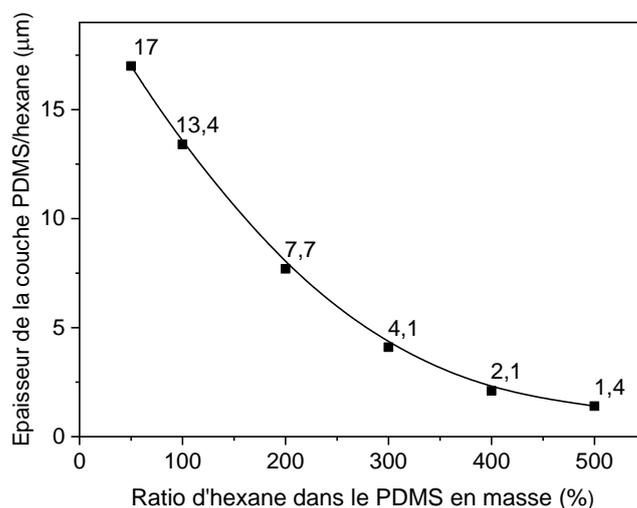


Figure 3.14. Epaisseurs des couches en fonction du ratio d'hexane dans le PDMS en masse. L'accélération, la vitesse et la durée de la rotation ont été maintenues constantes à 300 tours/min/s, 3000 tours/min et 30 s, respectivement.

On remarque qu'à partir du ratio PDMS/hexane de 1:2 en masse, l'épaisseur de la couche de PDMS/hexane est inférieure à 8 μm , qui est la plus petite épaisseur réalisable avec du PDMS pure (voir figure 3.11). Du ratio 1:2 à 1:5, l'épaisseur de la couche de PDMS/hexane varie entre 7,7 μm et 1,4 μm . Cela donne une gamme intéressante d'épaisseur pour laquelle le risque de boucher les microcanaux est réduit. Les différentes épaisseurs de PDMS/hexane correspondantes aux ratios de 1:2 à 1:5 en masse, ont été testées pour vérifier la fiabilité du collage. En conclusion, tous les ratios permettent un collage très performant entre deux surfaces de PDMS. Par précaution, nous choisissons un ratio PDMS/hexane de 1:4 en masse, conduisant à une épaisseur de couche de 2,1 μm . En effet, il faut considérer que plus l'épaisseur de PDMS/hexane sera réduite, moins l'adhésion sera forte. Nous estimons qu'une épaisseur de 2,1 μm est assez petite pour ne pas pénétrer dans les microcanaux du module de sang et de gaz. **En définitive, nous appelons cette méthode « collage humide PDMS/hexane ».**

Comparativement à la figure 3.11 où l'épaisseur minimale de PDMS obtenue est de 8 μm pour une vitesse de rotation de 8000 tours par minutes et une durée de rotation de 60 secondes, ici avec un ratio PDMS/hexane de 1:4 en masse, l'épaisseur de couche obtenue est de 2,1 μm pour une vitesse rotation de 3000 tours par minute et une durée de rotation de 30 secondes. A noter que l'accélération de la rotation est toujours identique avec une valeur de 300 tours par minutes par secondes. On constate que la dilution du PDMS dans l'hexane est une bonne technique pour réduire l'épaisseur des couches de PDMS à quelques micromètres. Il serait possible de réduire encore l'épaisseur de la couche de PDMS, par exemple en augmentant la vitesse et la durée de rotation ou en augmentant la proportion d'hexane dans le PDMS (ratio PDMS/hexane de 1:6, 1:7 etc...), mais au défaut de la qualité du collage qui pourrait être réduite si la quantité de PDMS est trop faible.

Enfin d'un point de vue biologique, l'hexane étant un solvant toxique, il n'est habituellement pas compatible avec une utilisation destinée au sang ou aux cellules. Cependant, nous estimons qu'une épaisseur aussi fine que 2 μm s'évapore facilement lors du recuit, l'hexane ayant une volatilité assez élevée. De plus, l'hexane n'est pas en contact direct avec l'intérieur des microcanaux. Le seul risque est qu'il peut couler légèrement au moment du protocole de collage au niveau de l'angle des microcanaux en contact avec la membrane. Pour empêcher toute contamination, un revêtement viendra protéger le sang et les cellules de la surface des microcanaux. La biocompatibilité de la structure tri-couches a été vérifiée en réalisant une culture cellulaire dans les microcanaux avec un revêtement collagène (voir partie III du chapitre 4). Les cellules ont proliféré normalement et n'ont pas montré de signes de souffrance ou de mort précoce au cours de la culture cellulaire.

II.3 – Intégration de la membrane entre les modules de PDMS par collage humide PDMS/hexane

Afin d'intégrer et de coller la membrane entre les deux modules de sang et de gaz, on utilise la méthode de collage humide PDMS/hexane mise au point et décrite dans la section précédente. Le protocole de collage est constitué de 6 étapes décrites dans la figure 3.15. D'autre part, pour une meilleure visualisation du protocole de fabrication, des photos des différentes étapes sont présentées figure 3.16, 3.17 et 3.18.

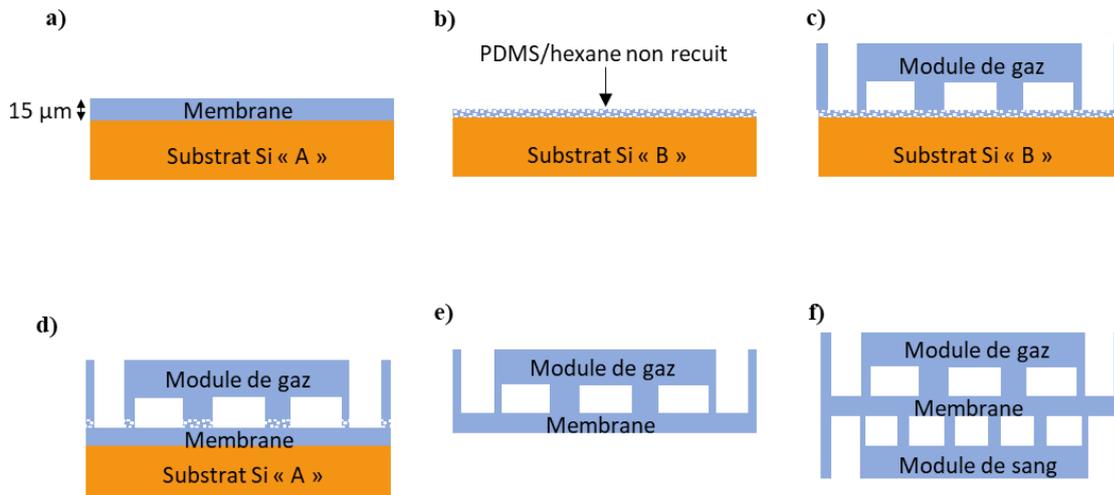


Figure 3.15. Les différentes étapes du procédé d'intégration de la membrane entre les deux modules de PDMS microstructurés permettant de former une structure tri-couches.

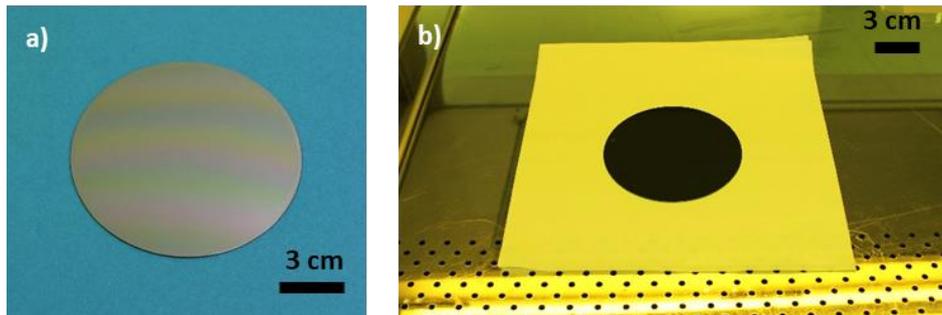


Figure 3.16. A gauche (a), une photo d'une membrane de PDMS réticulé, d'une épaisseur de $15\ \mu\text{m}$, sur son substrat en silicium. On remarque que l'épaisseur semble homogène et qu'il n'y a aucune poussière ni défaut au sein de la membrane. A droite (b), une photo de la couche de PDMS/hexane, d'une épaisseur d'environ $2\ \mu\text{m}$, sur son substrat en silicium. La photo est prise sous hotte car l'hexane est un solvant toxique.

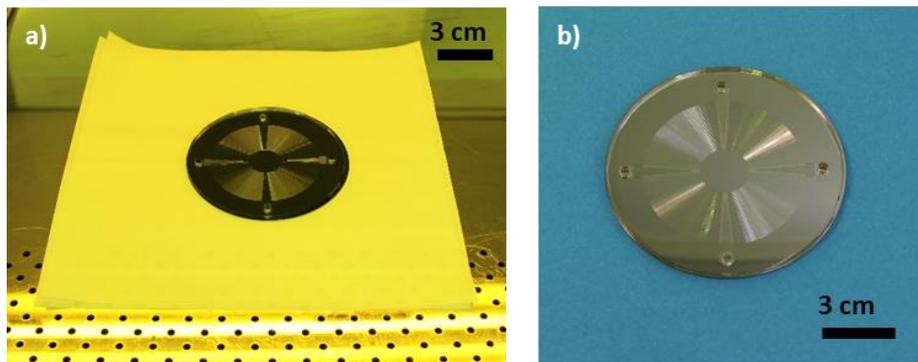


Figure 3.17. A gauche (a), une photo du module de gaz « tamponné » sur la couche de PDMS/hexane. A droite (b), le module de gaz est mis en contact avec la membrane de PDMS (après avoir été tamponné sur la couche de PDMS/hexane).

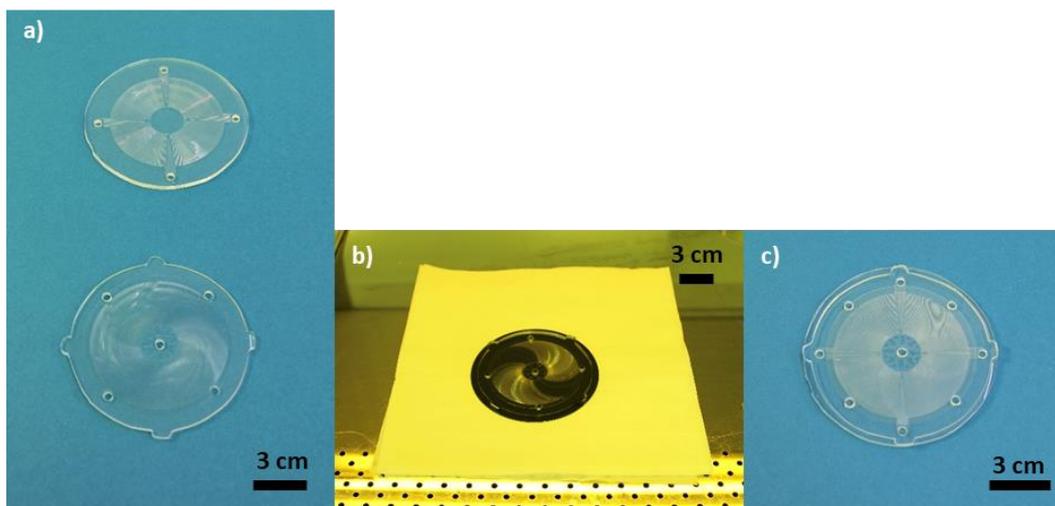


Figure 3.18. A gauche (a), une photo de l'ensemble « module de gaz + membrane » (en haut) et du module de sang (en bas) qui n'est pas encore intégré à l'ensemble « module de gaz + membrane ». Au milieu (b), une photo du module de sang tamponné sur une couche de PDMS/hexane. Et enfin à droite (c), une photo du module de sang mis en contact avec l'ensemble « module de gaz + membrane » (après avoir été tamponné sur la couche de PDMS/hexane), formant une structure tri-couche.

Lors de la 1^{ère} étape, comme expliqué précédemment, nous réalisons une membrane de PDMS réticulée de 15 μm d'épaisseur sur une plaque de silicium (substrat Si « A ») (figure 3.15 (a)). Pour la 2^{ème} étape (figure 3.15 (b)), 10g de PDMS sont confectionnés avec un ratio prépolymère/réticulant de 10:1 en masse. Le PDMS est ensuite dilué dans de l'hexane avec un ratio 1:4 en masse (10g de PDMS et 40g d'hexane). La solution est laissée 30 secondes dans un mélangeur pour obtenir un mélange homogène, puis elle est déposée sur une plaque de silicium (substrat Si « B ») par enduction centrifuge en utilisant les paramètres suivants : accélération : 300 tours/min/s, vitesse de rotation : 3000 tours/min et durée de rotation : 30 secondes. Ces paramètres nous permettent d'obtenir une couche mince d'environ 2 μm d'épaisseur. Sur la figure 3.16, on peut voir premièrement une membrane de PDMS réticulé (figure 3.16 (a)) et deuxièmement une couche de PDMS/hexane liquide utilisé pour le collage (figure 3.16 (b)).

Les étapes 3 et 4 consistent à tamponner le module de gaz sur la couche mince de PDMS/hexane liquide puis à mettre en contact le module de gaz avec la membrane de PDMS, préparée lors de la 1^{ère} étape (figure 3.15 (c) (d)). Cet ensemble est mis en étuve à 60°C pendant 2 heures. Cela permet d'évaporer l'hexane et de réticuler la couche fine de PDMS entre le module de gaz et la membrane. La figure 3.17 montre un module de gaz tamponné sur la couche de PDMS/hexane (figure 3.17 (a)) puis mis en contact avec la membrane de PDMS (figure 3.17 (b)).

La 5^{ème} étape correspond à la séparation de l'ensemble « module de gaz + membrane » de la plaque de silicium (substrat Si « A ») (figure 3.15 (e)). Le traitement anti-adhésif à l'optool réalisé au préalable permet une séparation tout en douceur sans abimer la membrane ni la plaque de silicium. Il suffit de tirer tout doucement sur l'ensemble pour que celui-ci se détache de la plaque de silicium.

Enfin la dernière étape est le collage du module de sang sur l'ensemble « module de gaz + membrane ». Pour cela, il faut reprendre les étapes 2, 3 et 4. Le module de sang est tamponné sur une nouvelle couche mince de PDMS/hexane puis mis en contact avec l'ensemble « module de gaz + membrane ». La structure tri-couches ainsi obtenu est placé dans une étuve à 60°C pendant 2 heures afin d'évaporer l'hexane et de réticuler la couche mince de PDMS entre le module de sang et la membrane. La figure 3.18 (a) illustre l'ensemble « module de gaz + membrane » séparé de la plaque de silicium ainsi que le module de sang qui n'est pas encore intégré à l'ensemble. La figure 3.18 (b) montre le module de sang tamponné sur une couche de PDMS/hexane liquide puis, mis en contact avec l'ensemble « module de gaz + membrane » (figure 3.18 (c)).

L'efficacité de ce collage permet de sceller de manière irréversible la membrane avec les deux modules de PDMS, formant une structure tri-couches parfaitement étanche et qui présente de très bonnes caractéristiques de tenues sous flux, comme nous allons le montrer plus loin (partie IV de ce chapitre).

La figure 3.19 montre une coupe transversale de la structure tri-couches réalisée au microscope électronique à balayage (MEB), et permettant de mesurer avec précision l'épaisseur de la membrane de 16 μm . La structure est mécaniquement stable et les microcanaux sont bien définis géométriquement grâce à la qualité des moules réalisés au préalable en lithographie optique.

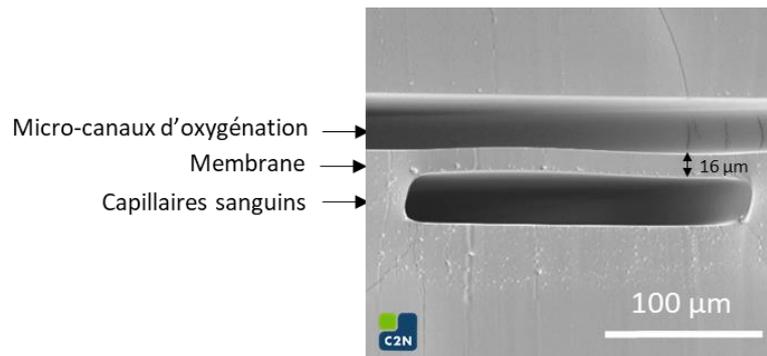


Figure 3.19. Image MEB d'une coupe transversale d'une structure tri-couche typique intégrant une membrane de 16 microns d'épaisseur. La hauteur des microcanaux ici est de 35 µm.

II.4 – Mise en place des connectiques fluidiques

Les connectiques fluidiques utilisées pour l'entrée et la sortie du sang ainsi que pour l'entrée du gaz d'oxygénation sont des tuyaux en silicone lisse et biocompatible dédiés à des applications biochimiques (« platinum-cured silicone tubing » de Darwin Microfluidics). Le diamètre intérieur est de 2,4 mm et le diamètre extérieur est de 5,6 mm. A noter que nous n'intégrons pas de connectiques fluidiques au niveau des sorties du gaz d'oxygénation, car nous n'avons pas besoin de récupérer le gaz d'oxygénation. Celui-ci se dissipe dans l'air ambiant après avoir circuler dans le dispositif.

Il faut mentionner que pour les premiers dispositifs, les connectiques fluidiques étaient directement intégrées dans les trous percés préalablement dans les modules de sang et de gaz, puis fixées à l'aide d'un dépôt, autour de ces connectiques, d'une solution de PDMS préparée avec un ratio prépolymère/réticulant de 5:1 en masse, comme cela est illustrée figure 3.20. Ce ratio permet d'obtenir un PDMS moins élastique qui joue le rôle de colle pour fixer et maintenir les connectiques droites. Toutefois, le problème avec cette technique est que les entrées et les sorties du sang et du gaz d'oxygénation peuvent être bouchées si les tuyaux sont trop enfoncés. D'autre part, l'épaisseur des modules de 5 mm n'est pas assez grande pour contenir correctement les connectiques qui peuvent se détacher et tomber lorsqu'on applique des débits élevés.



Figure 3.20. Ce dispositif composé d'une seule structure tri-couche montre la première technique d'intégration des connectiques fluidiques : les connectiques pour les entrées et les sorties du sang et du gaz d'oxygénation sont directement intégrées dans les trous percés préalablement dans les modules de PDMS puis fixées à l'aide d'un dépôt, autour de ces connectiques, d'une solution de PDMS préparé avec un ratio prépolymère/réticulant de 5:1 en masse.

C'est pourquoi nous avons utilisé une autre technique d'intégration des connectiques, dont les étapes du protocole d'intégration sont illustrées sur la figure 3.21. Concrètement, nous avons collé des blocs de PDMS d'une épaisseur de 8 mm, préalablement percé par un emporte-pièce d'un diamètre de 6 mm, au niveau de l'entrée et des sorties du sang et des entrées du gaz d'oxygénation. Cela permet de mieux maintenir les connectiques et de ne pas appuyer sur la membrane. A noter que les trous dans les blocs de PDMS ont le même diamètre que ceux percés aux entrées et sorties des modules de PDMS. Les connectiques fluidiques sont intégrées dans les blocs de PDMS puis fixées à l'aide d'un dépôt, autour de ces connectiques, d'une solution de PDMS préparée avec un ratio prépolymère/réticulant de 5:1 en masse. Ce ratio permet d'obtenir un PDMS moins élastique qui joue le rôle de colle pour fixer et maintenir les connectiques droites. Pour une meilleure visualisation du protocole d'intégration des connectiques, des photos des différentes étapes sont présentées figures 3.22, 3.23 et 3.24.

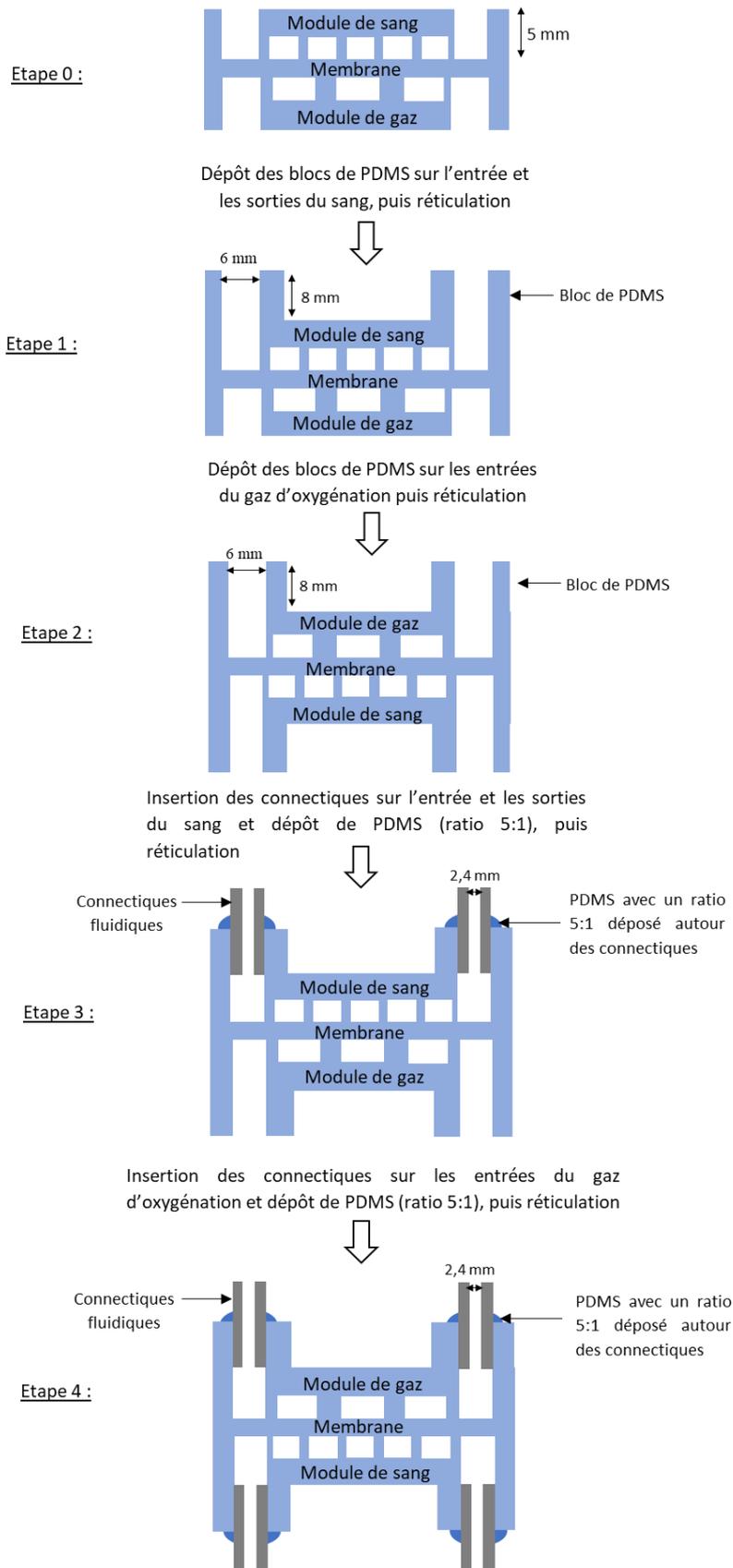


Figure 3.21. Description des étapes de l'intégration des connectiques fluidiques sur une structure tri-couches.

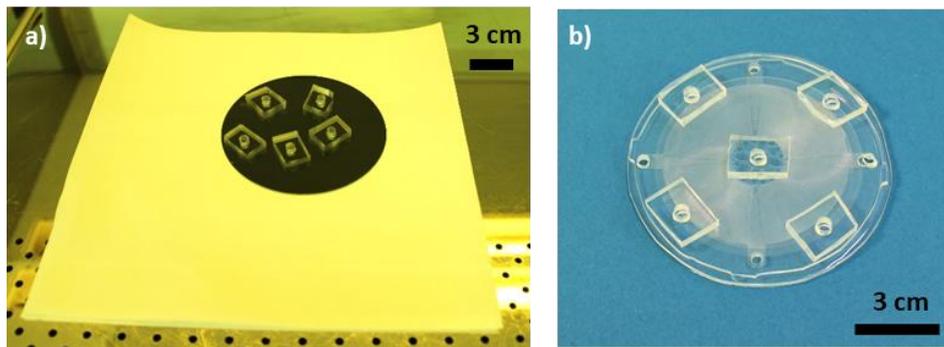


Figure 3.22. A gauche (a), une photo des blocs de PDMS « tamponnés » sur la couche de PDMS/hexane. A droite (b), les blocs de PDMS sont déposés sur l'entrée et les sorties du sang du dispositif (après avoir été tamponné sur la couche de PDMS/hexane).

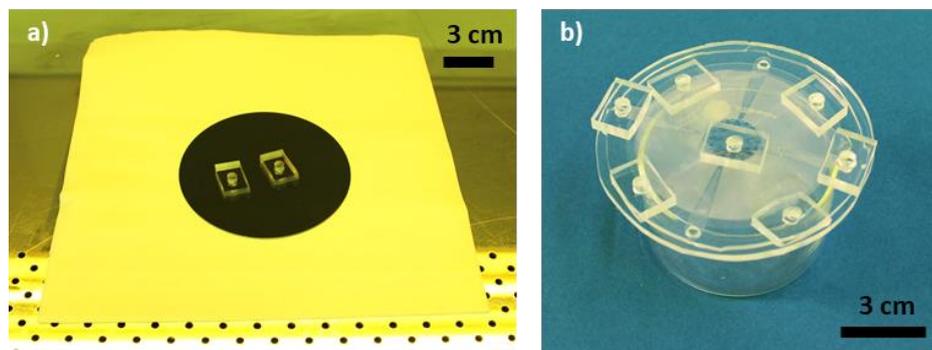


Figure 3.23. A gauche (a), une photo des blocs de PDMS « tamponnés » sur la couche de PDMS/hexane. A droite (b), les blocs de PDMS sont déposés sur les entrées du gaz d'oxygénation du dispositif (après avoir été tamponné sur la couche de PDMS/hexane).

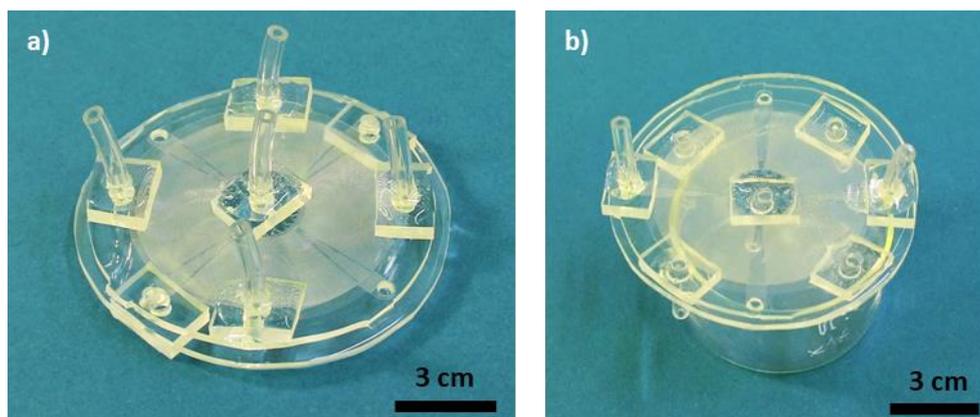


Figure 3.24. A gauche (a), Les connectiques fluidiques sont intégrées dans les blocs de PDMS (coté module de sang) puis du PDMS (ratio 1:5) est déposé autour des connectiques pour les fixer. Après une réticulation, à droite (b), les connectiques fluidiques sont intégrées dans les blocs de PDMS (coté module de gaz) puis du PDMS (ratio 1:5) est déposé autour des connectiques pour les fixer.

Le collage utilisé pour fixer les blocs de PDMS est le même que celui utilisé précédemment pour la conception d'une structure tri-couches : le collage humide PDMS/hexane. Pour la 1^{ère} étape (voir étape 1 de la figure 3.21), on prépare une solution de PDMS/hexane à un ratio 1:4, qui est déposée par enduction centrifuge sur une plaque de silicium avec les paramètres suivants : accélération : 300 tours/min/s, vitesse de rotation : 3000 tours/min et durée de rotation : 30 secondes. On tamponne ensuite sur la solution, 5 blocs de PDMS préalablement percés par un emporte-pièce d'un diamètre de 6 mm, puis on les dépose sur la structure tri-couches, coté module de sang, au niveau de l'entrée et des sorties du sang. Après 2h en étuve à 60°C, l'hexane s'est évaporé et les blocs de PDMS sont fixés de manière irréversible sur la structure tri-couches. Sur la figure 3.22, on peut voir 5 blocs de PDMS « tamponnés » sur la couche de PDMS/hexane (figure 3.22 (a)), puis déposés au niveau de l'entrée et des sorties du sang du dispositif (figure 3.22 (b)).

Lors de la 2^{ème} étape (voir étape 2 de la figure 3.21), nous réalisons la même chose coté module de gaz. Une autre solution de PDMS/hexane à un ratio 1:4 est préparée puis déposée par enduction centrifuge sur une plaque de silicium avec les mêmes paramètres de tournette que précédemment. 2 blocs de PDMS préalablement percés par un emporte-pièce d'un diamètre de 6 mm, sont tamponnés sur la solution, puis déposés sur la structure tri-couches, coté module de gaz, au niveau des deux entrées du gaz d'oxygénation. Après 2h en étuve à 60°C, l'hexane s'est évaporé et les blocs de PDMS sont fixés de manière irréversible sur la structure tri-couches. Sur la figure 3.23 est illustrés 2 blocs de PDMS « tamponnés » sur la couche de PDMS/hexane (figure 3.23 (a)), puis déposés au niveau des deux entrées de gaz du dispositif (figure 3.23 (b)).

L'étape 3 (voir étape 3 figure 3.21) consiste à intégrer les connectiques fluidiques dans les blocs de PDMS coté module de sang. Une solution de PDMS avec un ratio prépolymère/réticulant de 5:1 en masse est préparée puis laissée 10 min en étuve à 60°C pour qu'elle devienne moins liquide. La solution est ensuite étalée autour des connectiques fluidiques. L'ensemble est ensuite mis en étuve à 60 °C pendant 2 heures pour que le PDMS réticule. L'étape 4 (voir étape 4 figure 3.21) consiste à réaliser la même chose coté module de gaz. Sur la figure 3.24, on peut voir le dispositif composé des connectiques fluidiques intégrées dans les blocs de PDMS (et fixées avec du PDMS ratio 5:1 en masse) au niveau de l'entrée et des sorties du sang (figure 3.24 (a)). Puis on peut voir le même dispositif composé des connectiques fluidiques intégrées dans les blocs de PDMS (et fixées avec du PDMS ratio 5:1 en masse) au niveau des entrées de gaz (figure 3.24 (b)).

Sur la figure 3.25 est illustrée le dispositif d'une seule structure tri-couches complet et prêt à être utilisé.

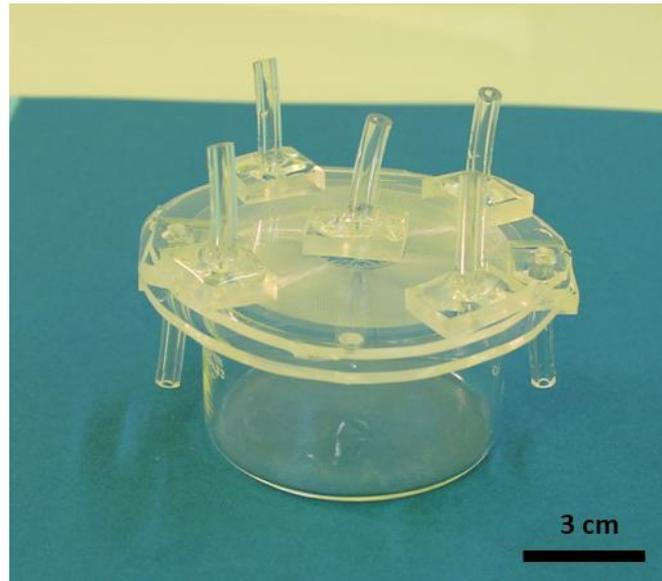


Figure 3.25. Dispositif tri-couches complet avec les connectiques fluidiques à l'entrée et aux sorties du sang (partie supérieure du dispositif) et aux entrées du gaz d'oxygénation (partie inférieure du dispositif). Les connectiques fluidiques sont maintenues par un bloc de PDMS et fixées avec une solution de PDMS d'un ratio prépolymère/réticulant de 5:1 en masse, déposée puis réticulée autour de la connectique.

III – Assemblage de plusieurs structures tri-couches en parallèle

III.1 – Description des structures empilées

Pour rappel, la géométrie des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation du modèle III est faite de telle sorte que la circulation du sang et du gaz d'oxygénation se fait de manière indépendante si l'on empile plusieurs structures tri-couches en parallèle (voir partie I du chapitre 2). La figure 3.26 montre une vue de dessus et une vue de section expliquant comment le sang circule dans une architecture composée de deux structures tri-couches empilées en parallèle. L'entrée centrale de sang, au niveau de la partie inférieure du dispositif empilé, fournira en parallèle tous les niveaux des capillaires sanguins. Le réservoir circulaire de chaque niveau collecte ensuite le sang oxygéné, puis celui-ci est récupéré par 4 sorties placées sur les diagonales du réservoir circulaire. Le sang oxygéné est récupéré au niveau de la partie inférieure du dispositif. La circulation du gaz d'oxygénation est expliquée dans la figure 3.27. Deux entrées latérales, au niveau de la partie supérieure du dispositif empilé, permettent la circulation et la distribution du gaz d'oxygénation dans tous les niveaux des microcanaux d'oxygénation. Deux sorties latérales récupèrent le gaz d'oxygénation qui est évacué au niveau de la partie supérieure du dispositif.

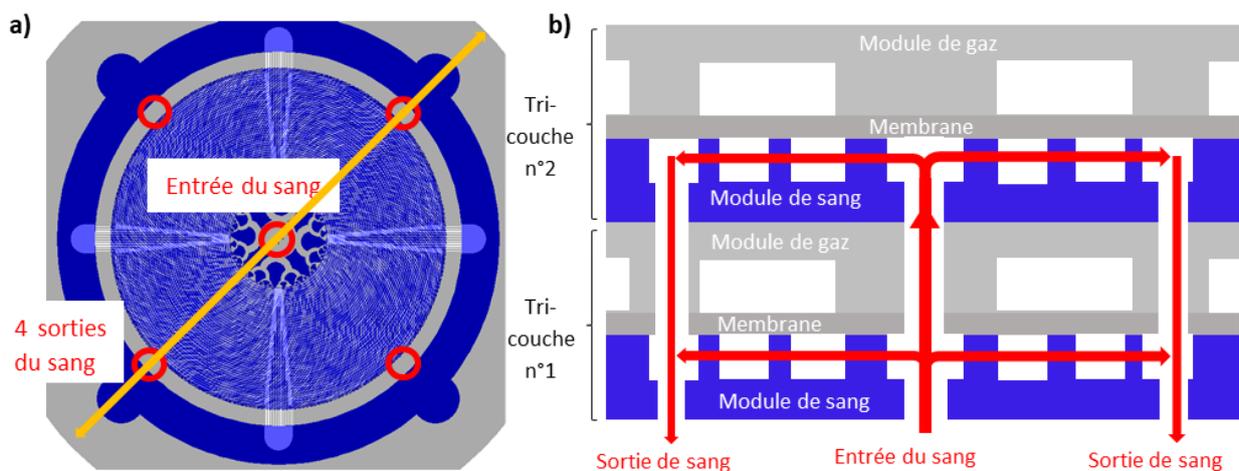


Figure 3.26. Description de la circulation sanguine dans 2 structures tri-couches empilées. A gauche (a), une vue de dessus montrant l'entrée centrale du sang et les 4 sorties en diagonale du sang ; et, à droite (b), une vue en coupe suivant la diagonale jaune permettant de visualiser la circulation du sang dans l'empilement.

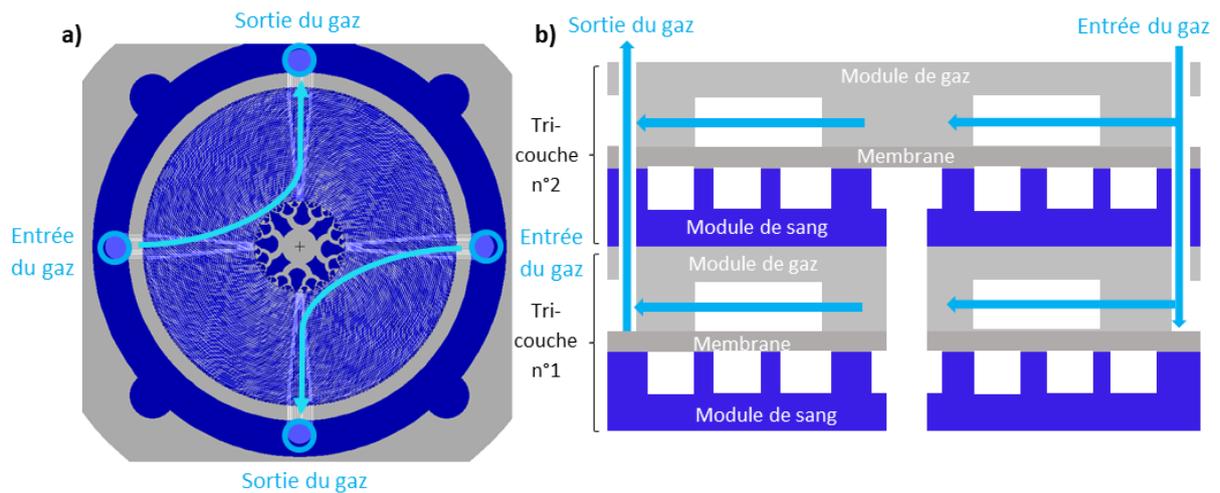


Figure 3.27. Description de la circulation du gaz dans 2 structures tri-couches empilées. A gauche (a), une vue de dessus montrant les deux entrées et les deux sorties latérales du gaz ; et, à droite (b), une vue en coupe suivant les flèches bleues permettant de visualiser la circulation de gaz dans l'empilement.

III.2 - Procédé d'empilement de plusieurs dispositifs tri-couches

Pour l'assemblage de plusieurs structures tri-couches en parallèle, nous commençons par concevoir indépendamment les structures tri-couches destinées à être empilées (sans les connectiques fluidiques). Quelques étapes au protocole décrit précédemment pour la réalisation d'une structure tri-couche doivent être ajoutées.

Premièrement, les positions des entrées et sorties du sang et du gaz d'oxygénation de la 1^{ère} structure tri-couches sont identifiées sur un papier calque afin de pouvoir être reportées sur les structures suivantes. Ainsi les entrées et les sorties du sang et du gaz d'oxygénation se situent au même niveau d'une structure tri-couches à l'autre. Deuxièmement, chaque module de sang et de gaz des structures tri-couches sont percés manuellement aux niveaux de toutes les entrées et les sorties du sang et du gaz d'oxygénation, excepté pour les deux structures tri-couches la plus haute et la plus basse de l'empilement. Plus précisément, prenons par exemple une des structures tri-couches située au milieu de l'empilement. Le module de gaz composé des microcanaux d'oxygénation est percé (en plus des trous des entrées et sorties du gaz d'oxygénation préalablement réalisé) au niveau de l'entrée et des sorties du sang du module de sang. Le module de sang, quant à lui, composé des capillaires sanguins est percé au niveau des entrées et des sorties du gaz d'oxygénation du module de gaz. Le but est de permettre la circulation des fluides entre les structures tri-couches. Pour la structure tri-couches la plus haute de l'empilement, les sorties de sang ne sont pas percées dans le module de gaz, car le sang est récupéré au niveau de la partie inférieure du dispositif (voir la circulation du sang figure 3.26). Pour la structure tri-couches la plus basse de l'empilement, les sorties du gaz d'oxygénation ne sont pas percées dans le module de sang, car le gaz d'oxygénation est évacué au niveau de la partie supérieure du dispositif (voir la circulation du gaz figure 3.27).

Les structures tri-couches sont ensuite scellées de manière irréversible les unes sur les autres. Le collage utilisé est toujours le même que celui décrit précédemment : le collage humide PDMS/hexane.

Le protocole est illustré sur la figure 3.28. La 1^{ère} structure tri-couches est tamponnée au niveau du module de sang sur une couche mince de PDMS/hexane non recuite, puis elle est mise en contact immédiatement avec la 2^{ème} structure tri-couches au niveau du module de gaz. L'ensemble est laissé en étuve à 60°C pendant 2h. On répète ensuite cette opération pour chaque structure tri-couches à empiler. A noter que l'alignement entre les structures tri-couches est réalisé visuellement à l'œil nu. La figure 3.29 illustre deux photos des étapes du protocole d'empilement.

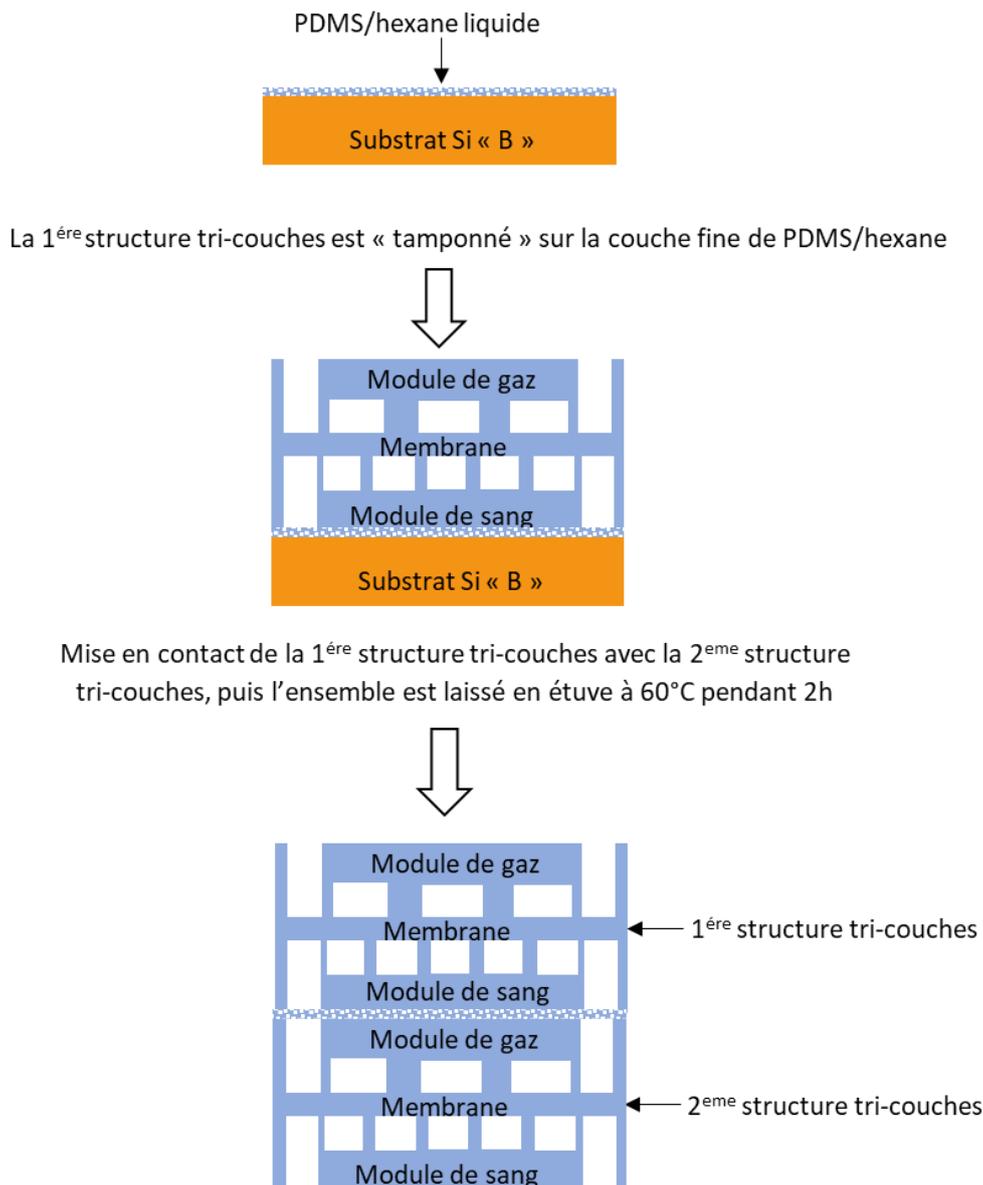


Figure 3.28. Etapes du protocole de collage entre plusieurs structures tri-couches.

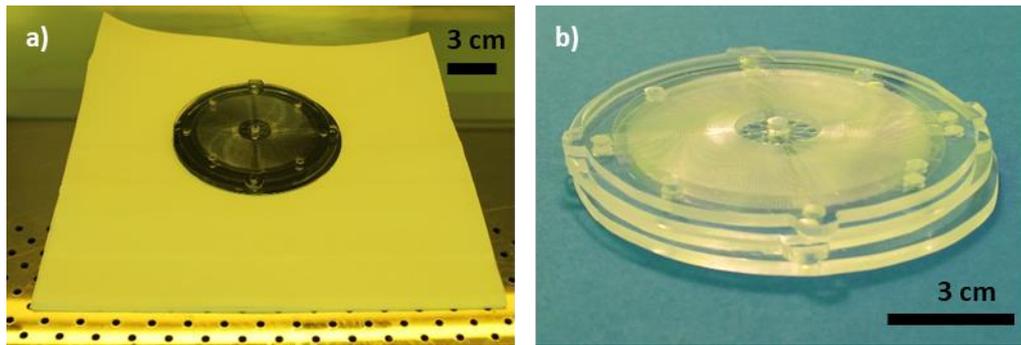


Figure 3.29. A gauche (a), une photo d'une 1^{ère} structure tri-couches « tamponnées » sur la couche de PDMS/hexane au niveau du module de sang. A droite (b), la 1^{ère} structure tri-couches est immédiatement mise en contact avec la 2^{ème} structure tri-couches au niveau de son module de gaz.

L'intégration des connectiques fluidiques est réalisée après le collage des structures tri-couches entre elles. Le protocole d'intégration des connectiques est le même que celui décrit précédemment (partie II.4 de ce chapitre). Les connectiques fluidiques pour les entrées du gaz d'oxygénation sont intégrées sur la structure tri-couches la plus haute de l'empilement et les connectiques fluidiques pour l'entrée et les sorties du sang sont intégrées sur la structure la plus basse de l'empilement. La figure 3.30 indique la position des entrées et des sorties du sang et du gaz d'oxygénation sur un dispositif composé de 3 structures tri-couches empilées en parallèle.

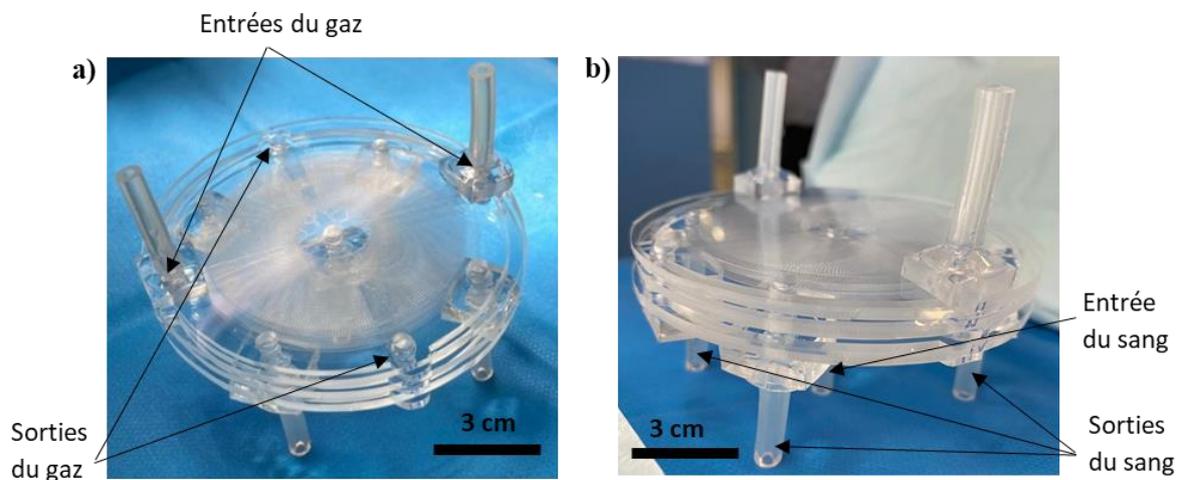


Figure 3.30. Dispositif composé de 3 structures tri-couches empilées en parallèle avec (a) une vue de dessus et (b) une vue de côté. On peut voir les entrées et les sorties du gaz d'oxygénation sur la structure la plus haute de l'empilement (a), ainsi que l'entrée et trois des quatre sorties du sang sur la structure la plus basse de l'empilement (b).

IV – Evaluation fluidique du dispositif

Dans cette partie, nous décrivons les premiers tests fluidiques réalisés au début de ce doctorat. Les géométries des microcanaux utilisés correspondent à des géométries « test » avant d’aboutir à la géométrie finale du modèle III. Le premier test présenté correspond à la vérification du passage de microbilles dans des microcanaux. Ces microbilles ont un diamètre équivalent à celui d’un globule rouge. Les deux autres expérimentations correspondent à des tests d’étanchéités et de tenue sous pression de dispositifs conçus avec le collage humide PDMS/hexane.

IV.1 – Dispositif test : vérification du passage de microbilles simulant des globules rouges dans des microcanaux

L’objectif de ce test est de vérifier le passage de globules rouges (ou éventuellement des cellules endothéliales) dans des microcanaux. Pour simuler les globules rouges, nous avons choisi de faire circuler des microbilles d’un diamètre de $6\ \mu\text{m}$ (voir figure 3.31) dans des microcanaux d’un module de PDMS microstructuré. En effet, les globules rouges ont un diamètre d’environ $8\ \mu\text{m}$ et les cellules endothéliales ont un diamètre d’environ $6\ \mu\text{m}$.



Figure 3.31. Représentation d’une microbille d’un diamètre de $6\ \mu\text{m}$.

La géométrie des microcanaux utilisée pour ce test est appelée « géométrie test 1 » et est illustrée figure 3.32. Elle est constituée de 32 microcanaux d’une largeur de $300\ \mu\text{m}$ et d’une longueur de 2 cm pour une dimension totale de $5,12\ \text{cm}^2$. C’est une version d’oxygénateur microfluidique de surface d’oxygénation réduite comparativement à la géométrie de taille 4 pouces. Cette géométrie a servi pour les premiers essais de fabrication de structures tri-couches sur petite surface et pour les premiers tests fluidiques, comme celui décrit ici. Le module de PDMS microstructuré est scellé sur un capot de PDMS vierge pour fermer les microcanaux en utilisant un collage plasma oxygène (le but n’est pas ici de réaliser une structure tri-couches). Ce type de collage est décrit de manière détaillée dans la section suivante. Trois dispositifs ont été testés, chacun composé de trois hauteurs de microcanaux différentes : 13, 35 et $60\ \mu\text{m}$.

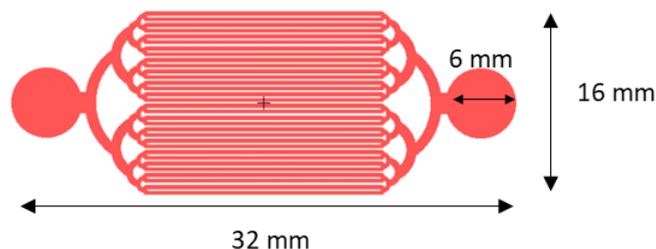


Figure 3.32. Géométrie « test 1 » des microcanaux, utilisée pour les premiers tests fluidiques. Elle est composée de 32 microcanaux d’une largeur de $300\ \mu\text{m}$ et d’une longueur de 2 cm pour une dimension de $5,12\ \text{cm}^2$.

Les microbilles ont été diluées dans de l'eau DI (0,1%) puis injectées dans les microcanaux en utilisant un contrôleur de pression Elveflow OB1 MK3+ (gamme de pression de 0 à 2 bars). Les pressions d'injection étaient comprises entre 80 et 600 mbar. Les toutes premières connectiques fluidiques utilisés pour l'entrée et la sortie de l'écoulement de microbilles étaient des tuyaux en tygon d'un diamètre intérieur de 0,5 mm (« Liquid Flows Tygon Tubing » de Darwin Microfluidic) connectés à des tubes en acier (« 23G Steel Tubing » de Darwin Microfluidic) insérés à l'entrée et à la sortie du module microstructuré, comme illustrée figure 3.33.

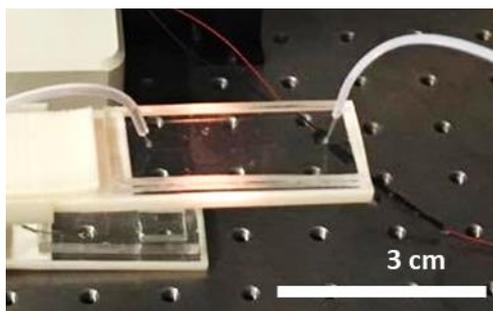


Figure 3.33. Module de PDMS microstructuré composé de microcanaux d'une hauteur de 35 μm (géométrie « test 1 »), sous écoulement de microbilles. Les connectiques fluidiques sont des tuyaux en tygon d'un diamètre intérieur de 0,5 mm connectés à des tubes en acier au niveau de l'entrée et de la sortie du module microstructuré.

Les microcanaux ont été observés sous microscope optique lors de l'injection. Quelle que soit la hauteur des microcanaux (même pour une petite hauteur de 13 μm) ou la pression d'injection, les microbilles passent sans problème. En aucun cas, cela n'a créé de bouchon ou un accrochement des billes sur les parois.

IV.2 – Dispositifs tests : comparaison du collage plasma oxygène classique et du collage humide PDMS/hexane

Pour pouvoir démontrer l'intérêt du collage humide PDMS/hexane décrit précédemment, il est intéressant de le comparer avec le collage par plasma oxygène, car ce dernier est le collage le plus utilisé en microfluidique et le plus simple à mettre en place. Pour rappel, le principe du collage plasma oxygène est défini partie II.1 de ce chapitre.

Pour effectuer cette comparaison, nous avons fabriqué deux structures tri-couches « test 2 » dont l'une est réalisée avec le collage humide PDMS/hexane et l'autre avec le collage plasma oxygène. Chacune des deux structures tri-couches est composée d'une membrane de 15 μm d'épaisseur scellée entre deux modules de PDMS composés de microcanaux d'une hauteur de 35 μm . Concernant la géométrie des microcanaux, nous avons utilisé une géométrie « test 2 », illustrée figure 3.34. C'est une version d'oxygénateur microfluidique plus grande que la géométrie « test 1 » permettant de vérifier l'efficacité du collage humide PDMS/hexane sur une plus grande surface. Chaque module de cet oxygénateur est

constitué de 64 microcanaux d'une largeur de 300 μm et d'une longueur de 3 cm pour une dimension totale de 19,8 cm^2 . La géométrie des microcanaux est la même pour les deux modules de PDMS, des deux côtés de la membrane (nous les appelons ici module 1 et module 2).

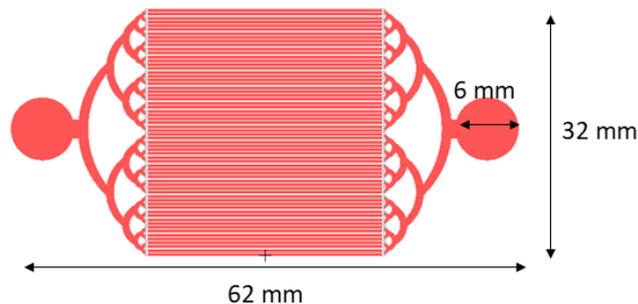


Figure 3.34. Géométrie « test 2 » des microcanaux, utilisée pour la comparaison entre le collage plasma oxygène et le collage humide PDMS/hexane. Elle est composée de 64 microcanaux d'une largeur de 300 μm et d'une longueur de 3 cm pour une dimension de 19,8 cm^2 .

Le 1^{er} dispositif a été réalisé en intégrant la membrane entre les deux modules de PDMS à l'aide du collage humide PDMS/hexane dont le protocole est expliqué de manière détaillée partie II de ce chapitre. Pour le 2^{ème} dispositif, nous avons utilisé le collage plasma oxygène pour intégrer la membrane. Une petite description de ce type de collage est nécessaire. Un plasma est un gaz partiellement ionisé composé d'électrons, d'ions, de particules ioniques chargées positivement ou négativement, d'atomes neutres et de molécules. La modification de surface par plasma emploie des gaz comme l'oxygène, l'azote et l'hydrogène qui viennent réagir sur la surface du substrat créant des groupes chimiques fonctionnels. Le plasma oxygène est le plus utilisé. Il permet la création d'une couche de silice (voir figure 3.13) d'épaisseur variable (de l'ordre de la centaine de nanomètres), dépendant de la puissance et de la durée du traitement plasma [20]. Cette méthode de collage nécessite l'utilisation d'un bâti plasma RIE (« Reactive Ion Etching » en anglais). Le principe de la gravure RIE est l'application d'une différence de potentiel entre la cible et les parois du réacteur au sein d'une atmosphère raréfiée (donc sous vide) qui permet la création d'un plasma froid, composé d'électrons, d'ions, de photons et de neutrons dans un état fondamental ou excité. Sous l'effet du champ électrique, les espèces positives du plasma se trouvent attirées par la cathode (cible) et entrent en collision avec cette dernière. Elles communiquent alors leur quantité de mouvement, provoquant ainsi la pulvérisation des atomes sous forme de particules neutres qui se condensent sur le substrat.

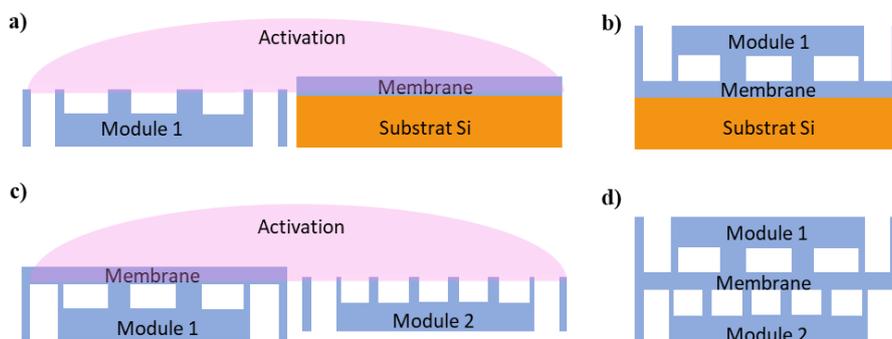


Figure 3.35. Le procédé du collage classique par plasma oxygène permettant de former une structure tri-couche ; avec premièrement une activation de la surface du module 1 et de la membrane (a) ; puis deuxièmement une mise en contact direct entre le module 1 et la membrane suivi d'un recuit à 60°C pendant 1h (b) ; s'ensuit une activation de l'ensemble « module 1 + membrane » et du module 2 (c) ; et enfin une mise en contact direct entre le module 2 et l'ensemble « module 1 + membrane » suivi d'un recuit à 60°C pendant 1h (d).

Les étapes du protocole de collage sont illustrées figure 3.35. Lors de la 1^{ère} étape, le module 1 et la membrane sont activés avec un plasma oxygène pendant 30 secondes (figure 3.35 (a)). Les deux parties sont ensuite immédiatement mises en contact et déposées en étuve à 60°C pendant 1 heure (figure 3.35 (b)). L'ensemble est ensuite séparé du substrat en silicium. La 2^{ème} étape consiste à activer l'ensemble « module 1 + membrane » avec le module 2 en utilisant les mêmes paramètres du bâti plasma RIE (figure 3.35 (c)). Après une mise en contact immédiate, la structure tri-couche est mise en étuve à 60°C pendant 1 heure (figure 3.35 (d)).

Vient ensuite le test fluïdique. Pour chacun des deux dispositifs, un colorant bleu est injecté dans les microcanaux du module 1, pendant qu'un colorant rouge est introduit dans les microcanaux du module 2. Les deux colorants sont poussés dans les dispositifs à des pressions croissantes allant de 0 à 1 bar en utilisant un contrôleur de pression Elveflow OB1 MK3+ (gamme de pression de 0 à 2 bars). La pression d'entrée du colorant rouge est toujours la même que celle du colorant bleu. Ce test a été réalisé deux fois avec la même conclusion : jusqu'à une pression d'entrée de 1 bar, il n'y a aucune fuite dans la 1^{ère} structure tri-couche réalisée avec un collage humide PDMS/hexane. Alors que pour la 2^{ème} structure tri-couche réalisée avec un collage plasma oxygène, il y a des fuites à partir d'une pression d'entrée de 300 mbar. La figure 3.36 présente deux dispositifs sous une pression de 300 mbar.

Le collage humide PDMS/hexane est certainement le meilleur choix pour notre application et particulièrement pour le scellement des surfaces de grands formats (> 2 cm²). Il permet de supprimer les irrégularités de liaisons que l'on observe sur grandes surfaces avec le collage plasma oxygène. D'autre part, la couche de PDMS/hexane est suffisamment visqueuse pour permettre le déplacement d'une surface par rapport à l'autre au moment de l'alignement, sans altérer la qualité du collage.

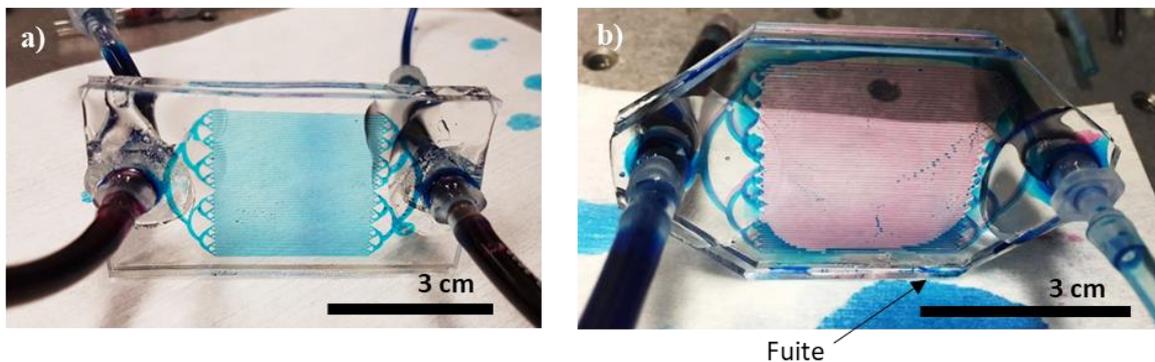


Figure 3.36. Ecoulement fluïdique (à une pression de 300 mbar) dans deux structures tri-couche dont la technique de collage est différente : la 1^{ère} structure tri-couche est réalisée avec le collage humide PDMS/hexane (a) ; et la 2^{ème} structure tri-couche est réalisée avec un collage plasma oxygène (b). On remarque l'apparition de fuites dans la 2^{ème} structure tri-couche.

IV.3 – Dispositifs 4 pouces à tri-couches unique scellés par collage humide PDMS/hexane

Un test d'étanchéité et de pression a été réalisé pour une structure tri-couches de taille 4 pouces, réalisée avec un collage humide PDMS/hexane. Une membrane d'une épaisseur de $15\ \mu\text{m}$ est intégrée entre deux modules de PDMS microstructuré en utilisant le collage humide PDMS/hexane. La géométrie des deux modules est celle du modèle I (voir partie I du chapitre 2), c'est-à-dire que le réservoir circulaire du réseau de microcanaux est large ($6\ \text{mm}$) et le réseau de microcanaux est le même pour le module de sang et le module de gaz. Nous les appelons ici module 1 et module 2.

En utilisant un contrôleur de pression Elveflow OB1 MK3+ (gamme de pression de 0 à 2 bars), un colorant bleu est injecté dans le module 1 pendant qu'un colorant rouge est injecté dans le module 2. Les deux colorants sont poussés à des pressions croissantes allant de 200 à 700 mbar (la pression d'injection est toujours la même pour les deux modules). Nous n'avons pas pu tester des pressions d'injection supérieures à 700 mbar, car un problème technique sur le contrôleur de pression ce jour-là nous a limité en termes de pression d'injection. Le débit est mesuré pour chaque pression d'injection en estimant le volume de colorant en sortie pendant un temps d'écoulement déterminé. Une photo d'un dispositif sous flux ainsi qu'un graphique représentant la pression d'injection en fonction du débit sont présentés figure 3.37.

Ce test d'étanchéité montre une circulation des fluides complètement indépendante entre chaque module. Aucune fuite ni rupture du dispositif n'a été observée jusqu'à une pression d'injection de 700 mbar. Le très haut débit de $25\ \text{ml/min}$ atteint pour une pression d'injection de 700 mbar confirme une très bonne étanchéité du système. Il est important de notifier que ce débit est obtenu pour une seule structure tri-couches ici alors que Gimbel *et coll.* [28] obtient le même débit sanguin pour 14 structures empilées en parallèle.

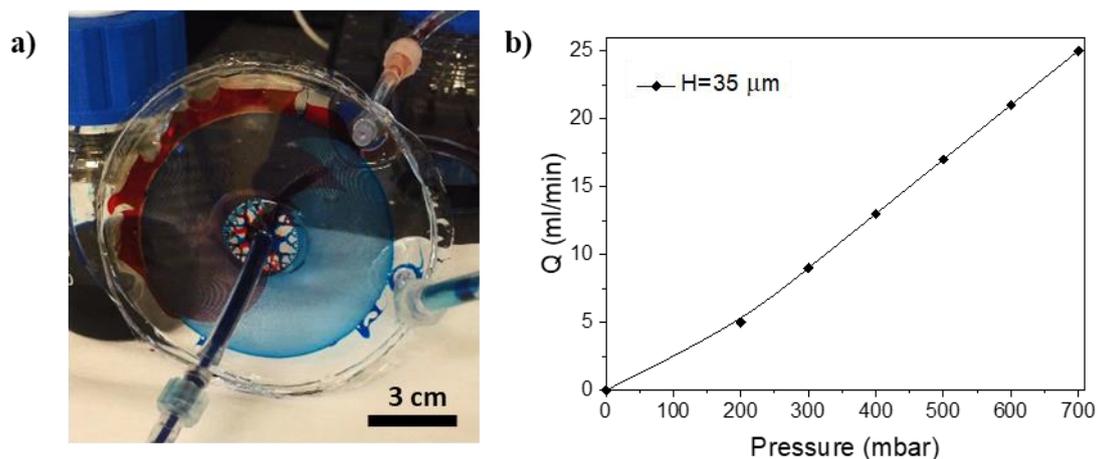


Figure 3.37. A gauche (a) une structure tri-couches composée du modèle I sous écoulement de colorant (bleu dans le module 1 et rouge dans le module 2) et à droite (b) un graphique représentant la pression d'injection en fonction du débit.

En perspective de cette étude, un autre test d'étanchéité et de pression pourrait être réalisé à l'avenir sur le modèle III en assurant une circulation d'air ou d'oxygène dans le module de gaz et de sang de cochon dans le module de sang. Deux pousses-seringues pourraient être utilisés pour faire circuler chacun des deux fluides des deux côtés de la membrane, afin d'avoir une valeur plus précise du débit sanguin et du débit d'air. Deux capteurs de pression (un côté module de sang et un côté module de gaz) pourraient être installés en amont du dispositif pour mesurer la chute de pression côté sang et côté air. **En effet il est important d'estimer la chute de pression côté module de sang et côté module de gaz car si celle-ci est trop importante d'un des deux côtés de la membrane, cela peut réduire la capacité d'oxygénation et de retrait du CO₂ du dispositif et, de surcroît cela peut être néfaste pour le patient.** En effet si la chute de pression côté module de sang est trop élevée, la formation de caillots sanguins peut rapidement bloquer les capillaires sanguins et ainsi réduire la performance d'oxygénation. Nous verrons dans le chapitre suivant que si la chute de pression côté module de gaz est trop élevée, cela peut induire une mauvaise circulation du gaz et donc un faible approvisionnement en oxygène mais également un mauvais relargage du dioxyde de carbone qui stagne dans les microcanaux d'oxygénation. D'autre part, la chute de pression côté module de gaz ne doit pas dépasser celle côté module de sang afin d'empêcher la fuite de gaz à travers la membrane, ce qui peut mener à l'embolie gazeuse. L'embolie gazeuse se produit lorsque des bulles de gaz pénètrent dans les artères d'un patient, obstruant le flux sanguin et entraînant l'ischémie d'un organe [29].

Références bibliographiques du Chapitre 3

- [1] Lisensky, G. C., Campbell, D. J., Beckman, K. J., Calderon, C. E., Doolan, P. W., Ottosen, R. M., & Ellis, A. B. (1999). Replication and Compression of Surface Structures with Polydimethylsiloxane Elastomer. *Journal of Chemical Education*, 76(4), 537.
- [2] Esteves, A. C. C., Brokken-Zijp, J., Laven, J., Huinink, H. P., Reuvers, N. J. W., Van, M. P., & de With, G. (2009). Influence of cross-linker concentration on the cross-linking of PDMS and the network structures formed. *Polymer*, 50(16), 3955–3966.
- [3] Liu, M., Sun, J., Sun, Y., Bock, C., & Chen, Q. (2009). Thickness-dependent mechanical properties of polydimethylsiloxane membranes. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 19(3), 035028.
- [4] McDonald, J. C., & Whitesides, G. M. (2002). Poly(dimethylsiloxane) as a Material for Fabricating Microfluidic Devices. *Accounts of Chemical Research*, 35(7), 491–499.
- [5] Koschwanetz, J. H., Carlson, R. H., & Meldrum, D. R. (2009). Thin PDMS Films Using Long Spin Times or Tert-Butyl Alcohol as a Solvent. *PLoS ONE*, 4(2), e4572.
- [6] Zelsmann, M., Alleaume, C., Truffier-Boutry, D., Francone, A., Beaurain, A., Pelissier, B., & Boussey, J. (2010). Degradation and surfactant-aided regeneration of fluorinated anti-sticking mold treatments in UV nanoimprint lithography. *Microelectronic Engineering*, 87(5-8), 1029–1032.
- [7] Bossard, M. (2016). Développement de moules intrinsèquement antiadhésifs pour l'étude du collage en nano-impression. Thèse de Doctorat, Université Grenoble Alpes.
- [8] Truffier-Boutry, D., Galand, R., Beaurain, A., Francone, A., Pelissier, B., Zelsmann, M., & Boussey, J. (2009). Mold cleaning and fluorinated anti-sticking treatments in nanoimprint lithography. *Microelectronic Engineering*, 86(4-6), 669–672.
- [9] Truffier-Boutry, D., Beaurain, A., Galand, R., Pelissier, B., Boussey, J., & Zelsmann, M. (2010). XPS study of the degradation mechanism of fluorinated anti-sticking treatments used in UV nanoimprint lithography. *Microelectronic Engineering*, 87(2), 122–123.
- [10] Eddings, M. A., Johnson, M. A., & Gale, B. K. (2008). Determining the optimal PDMS–PDMS bonding technique for microfluidic devices. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 18(6), 067001.
- [11] Eddings, M. A., & Gale, B. K. (2006). A PDMS-based gas permeation pump for on-chip fluid handling in microfluidic devices. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 16(11), 2396–2402.
- [12] Unger, M. A. (2000). Monolithic Microfabricated Valves and Pumps by Multilayer Soft Lithography. *Science*, 288(5463), 113–116.
- [13] Bhattacharya, S., Datta, A., Berg, J. M., & Gangopadhyay, S. (2005). Studies on surface wettability of poly(dimethyl) siloxane (PDMS) and glass under oxygen-plasma treatment and correlation with bond strength. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 14(3), 590–597.
- [14] Firpo, G., Angeli, E., Repetto, L., & Valbusa, U. (2015). Permeability thickness dependence of polydimethylsiloxane (PDMS) membranes. *Journal of Membrane Science*, 481, 1–8.

- [15] Gimbel, A. A., Flores, E., Koo, A., García-Cardena, G., & Borenstein, J. T. (2016). Development of a biomimetic microfluidic oxygen transfer device. *Lab on a Chip*, 16(17), 3227–3233.
- [16] Tan, S. H., Nguyen, N.-T., Chua, Y. C., & Kang, T. G. (2010). Oxygen plasma treatment for reducing hydrophobicity of a sealed polydimethylsiloxane microchannel. *Biomicrofluidics*, 4(3), 032203.
- [17] Yang, C., Wang, W., & Li, Z. (2009). Optimization of corona-triggered PDMS-PDMS bonding method. 2009 4th IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems.
- [18] Markov, D. A., Lillie, E. M., Garbett, S. P., & McCawley, L. J. (2013). Variation in diffusion of gases through PDMS due to plasma surface treatment and storage conditions. *Biomedical Microdevices*, 16(1), 91–96.
- [19] Lee, G.-B., Lin, C.-H., Lee, K.-H., & Lin, Y.-F. (2005). On the surface modification of microchannels for microcapillary electrophoresis chips. *ELECTROPHORESIS*, 26(24), 4616–4623.
- [20] Feltrin, E. (2013). Surfaces PDMS structurées et/ou décorées par des nanoparticules : vers des propriétés optiques et de mouillage modulable. Thèse de doctorat, université de Bordeaux.
- [21] Satyanarayana, S., Karnik, R. N., & Majumdar, A. (2005). Stamp-and-stick room-temperature bonding technique for microdevices. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 14(2), 392–399.
- [22] Kang, E., Ryoo, J., Jeong, G. S., Choi, Y. Y., Jeong, S. M., Ju, J., ... Lee, S.-H. (2013). Large-Scale, Ultrapliable, and Free-Standing Nanomembranes. *Advanced Materials*, 25(15), 2167–2173.
- [23] Thangawng, A. L., Ruoff, R. S., Swartz, M. A., & Glucksberg, M. R. (2007). An ultra-thin PDMS membrane as a bio/micro–nano interface: fabrication and characterization. *Biomedical Microdevices*, 9(4), 587–595.
- [24] Lee, J., He, B., & Patankar, N. A. (2005). A roughness-based wettability switching membrane device for hydrophobic surfaces. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 15(3), 591–600.
- [25] Harmon, M. E., Tang, M., & Frank, C. W. (2003). A microfluidic actuator based on thermoresponsive hydrogels. *Polymer*, 44(16), 4547–4556.
- [26] SU-8 2050 data sheet. Microchem. Internet, available on http://web.mit.edu/3.042/team1_08f/documents/SU8-2050.pdf
- [27] SU-8 3050 data sheet. Microchem. Internet, available on <http://cleanroom.groups.et.byu.net/su8.parts/SU-8%203000%20Data%20Sheet-1.pdf>
- [28] Gimbel, A. A., Flores, E., Koo, A., García-Cardena, G., & Borenstein, J. T. (2016). Development of a biomimetic microfluidic oxygen transfer device. *Lab on a Chip*, 16(17), 3227–3233.
- [29] Thompson, A. J., Ma, L. J., Plegue, T. J., & Potkay, J. A. (2018). Design Analysis and Optimization of a Single Layer PDMS Microfluidic Artificial Lung. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 1–1.

Chapitre 4 – Performances de l'oxygénateur microfluidique : méthodes et mesures

En complément des calculs numériques présentés au chapitre 2, des mesures d'échange de gaz ont été réalisées au cours de cette thèse sur un grand nombre de dispositifs 4 pouces simples, composés d'une seule structure tri-couches, et sur un dispositif constitué de 3 structures tri-couches empilées.

Le banc expérimental est installé à l'hôpital Marie Lannelongue, car l'établissement dispose de tous les appareils dont nous avons besoin : analyseur sanguin, capteur de pression médical, mélangeur de gaz (air/oxygène) couplé à un débitmètre massique et pousse-seringues. L'hôpital dispose également de cochons dédiés à la recherche scientifique sur lesquels nous pouvons prélever le sang veineux.

La première partie de ce chapitre décrit le banc expérimental mis en place et le 1^{er} protocole simple de prélèvement/préparation du sang. Sont ensuite décrites les premières campagnes de mesures d'échange de gaz et de chute de pression au sein de grands dispositifs 4 pouces intégrant une membrane fine de 15 microns d'épaisseur. Ces premières mesures ont permis de vérifier et de compléter les calculs numériques du chapitre 2 (partie IV) en identifiant les paramètres importants pour l'échange de gaz, à savoir le débit sanguin Q , la hauteur des microcanaux (capillaires sanguin et microcanaux d'oxygénation) H , la surface d'échange S_A , ainsi que le pourcentage d'oxygène dans le gaz d'oxygénation.

Le 1^{er} protocole de prélèvement du sang conduisait toujours à une saturation en oxygène en entrée ($SatO_{2, entrée}$) peu reproductible d'un prélèvement à un autre et trop élevée pour simuler un sang veineux. J'ai donc mis en place, avec le personnel hospitalier, un 2^{ème} protocole pour le prélèvement du sang qui permet d'obtenir un sang de cochon avec les caractéristiques typiques d'un sang veineux ($SatO_2 = 65\% \pm 5\%$). Ce protocole permet d'obtenir des mesures plus fiables qui révèlent bien la capacité maximale d'échange gazeux du dispositif. Ces mesures permettent de déterminer les paramètres optimaux pour les échanges de gaz tout en gardant une chute de pression raisonnable. Une comparaison des mesures expérimentales avec les calculs numériques décrits au chapitre 2 est proposée. Cette 2^{ème} partie du chapitre s'achève avec la première expérience réalisée avec un dispositif composé de 3 structures tri-couches empilées en parallèle.

Une troisième partie présente brièvement les premiers tests d'endothélialisation des capillaires sanguins afin d'obtenir des dispositifs hémocompatibles. Ces tests ont été réalisés en collaboration avec l'unité de recherche de l'Inserm U1197 « Interactions cellules souches-niches : physiologie, tumeurs et réparation tissulaire ».

Enfin ce chapitre se termine avec une conclusion résumant les principaux résultats obtenus et décrit les prochaines expériences à réaliser pour compléter cette étude.

I – Les premières mesures : détermination des paramètres les plus influents

I.1 – Protocoles :

I.1.1 – Prélèvement du sang veineux de cochon (1^{er} protocole)

Un banc expérimental microfluidique a été installé à l'hôpital Marie-Lannelongue afin de tester l'efficacité d'échange de gaz des dispositifs avec du sang de cochon veineux. Avant de commencer les expérimentations, nous prélevons du sang veineux sur un cochon de l'hôpital Marie Lannelongue. Afin de limiter le nombre d'animaux utilisés à des fins scientifiques et tout en respectant la réglementation sur les tests sur les animaux, nous prélevons du sang à la fin d'une procédure sur des animaux déjà inclus dans d'autres protocoles. Après une prémédication puis une anesthésie de l'animal *Propofol IV* (3 mg/kg, *PROPOVET*[®] 10mg/ml, ampoule de 20ml) / *Cisatracurium* (0,3 mg/kg *NIMBEX*[®], 2mg/ml) / *Sufentanil IV* (10 µg/kg/h), une sonde endotrachéale est placée dans la trachée pour pouvoir ventiler l'animal à l'aide d'un mélange gazeux humidifié (chauffé à 38°C) avec une FiO_2 (fraction d'oxygène inspiré) de 0,3 délivré à 8 l/min. La FiO_2 est la fraction d'oxygène présent dans le mélange gazeux que respire une personne. Les patients ayant des difficultés à respirer bénéficient d'un air enrichi en oxygène, ce qui signifie que la FiO_2 de ce dernier est supérieure à la normale atmosphérique. L'air naturel contient 21% d'oxygène, ce qui équivaut à une FiO_2 de 0,21. L'air enrichi en oxygène a une FiO_2 supérieure à 0,21.

Le sang est rapidement collecté dans la veine cave supérieure via un introducteur de 7 French (2,33 mm) placé dans le tronc veineux innominé (TVI). Le TVI est la confluence des veines jugulaires interne et des veines subclavières. Pour se rendre compte ou a été prélevé le sang, une représentation de la veine cave supérieur et du tronc veineux innomé est présenté figure 4.1. Pour information, la veine cave supérieure est une veine large et courte qui transporte la majeure partie du sang désoxygéné de la partie supérieure du corps, c'est-à-dire de l'ensemble des organes situés au-dessus du diaphragme, vers l'atrium droit (anciennement oreillette droite) du cœur.

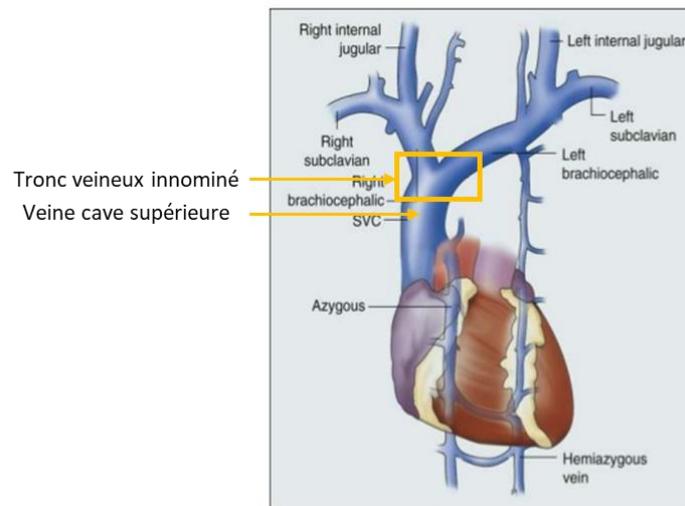


Figure 4.1. Représentation de la veine cave supérieure et du tronc veineux innominé (TVI) [30].

À la fin du prélèvement, l'animal est euthanasié par injection d'une surdose de pentobarbital sodique à usage vétérinaire. La dose utilisée est de 150 mg/kg par voie intraveineuse.

De l'héparine (5000 UI par litre) est ensuite ajoutée dans le sang prélevé pour prévenir la coagulation. La poche de sang est laissée à température ambiante et sous agitation pour empêcher la sédimentation des cellules. Le sang est utilisé pour les expérimentations pendant environ 7h.

La saturation en oxygène ($SatO_2$), la pression partielle en oxygène (PO_2) et la pression partielle en dioxyde de carbone (PCO_2) du sang sont mesurées avant et après le prélèvement en utilisant l'analyseur de gaz du sang « radiometer ABL800 Flex » de l'hôpital. Nous avons aussi utilisé pour quelques expériences un analyseur portatif EPOC (SIEMENS), qui possède l'avantage de pouvoir analyser de très faibles volumes de sang, 80 μ l (contre 1,5 ml pour système ABL800 Flex) dans de petites cartes fluidiques. Ces deux systèmes conduisent à des mesures équivalentes, ce que nous avons résumé dans l'annexe 7 à la fin du mémoire. Pour la suite de ce chapitre, nous ne présenterons que les mesures effectuées avec le système classique radiometer ABL800 Flex.

	PO_2 (mmHg)	PCO_2 (mmHg)	$SatO_2$ (%)
Valeurs de référence des gaz du sang veineux de cochon d'après Bekheit et coll. [24]	$37,32 \pm 9,1$	$55,37 \pm 13,36$	$64,27 \pm 14,89$
Valeurs des gaz du sang veineux obtenus lors du 1 ^{er} protocole de prélèvement de sang	$69,3 \pm 5,1$	$52 \pm 7,7$	$90,2 \pm 5,2$

Tableau 4.1. Valeurs de référence des gaz du sang veineux de cochon d'après Bekheit et coll. [24] comparées aux valeurs moyennes de gaz du sang veineux de cochon obtenues lors du 1^{er} protocole de prélèvement du sang.

Dans le tableau 4.1 sont rapportées les valeurs de référence des gaz du sang veineux de cochon d’après Bekheit *et coll.* [24] comparées à nos valeurs moyennes obtenues lors du 1^{er} protocole de prélèvement du sang présenté ci-dessus (moyenne 10 prélèvements). Nous verrons plus loin que nous proposerons un second protocole de prélèvement du sang. Nous remarquons que les valeurs de PO_2 et de $SatO_2$ sont beaucoup plus élevées que les valeurs attendues. Cela peut être dû à la FiO_2 administrée pendant la ventilation mécanique qui est peut-être trop élevée.

Nous verrons dans la dernière partie de ce chapitre qu’un sang trop oxygéné en entrée du dispositif ne permet pas d’extraire au mieux les performances d’oxygénation/retrait du CO_2 du système, car : 1/ le sang mettra moins de temps qu’il ne devrait pour atteindre une $SatO_2$ à 100%, 2/ la variation de PO_2 ainsi que et la variation de $SatO_2$ entre l’entrée et la sortie du dispositif seront moins élevées, ce qui réduira la valeur du taux de transfert d’oxygène (voir partie III.3.2 du chapitre 2 pour le calcul du taux de transfert d’oxygène). **Nous nous sommes rendu compte de l’importance d’introduire un sang très sous-oxygéné avec une saturation inférieure à 70% pour pouvoir tester au mieux les performances du dispositif, après la première campagne de mesures, qui est rapportée dans cette première partie du chapitre.** Malgré un sang trop oxygéné en entrée, cette première campagne de mesures nous a permis cependant de déterminer expérimentalement les paramètres les plus influents sur les capacités d’échange gazeux du dispositif. **En milieu de chapitre, nous proposerons un second protocole de prélèvement du sang pour obtenir une saturation en oxygène en entrée ($SatO_{2, \text{entrée}}$) reproductible et proche des 65 % et, en fin de chapitre, sera rapportée une deuxième campagne de mesures, effectuée dans les conditions optimales.**

I.1.2 – Banc expérimental et protocole des mesures

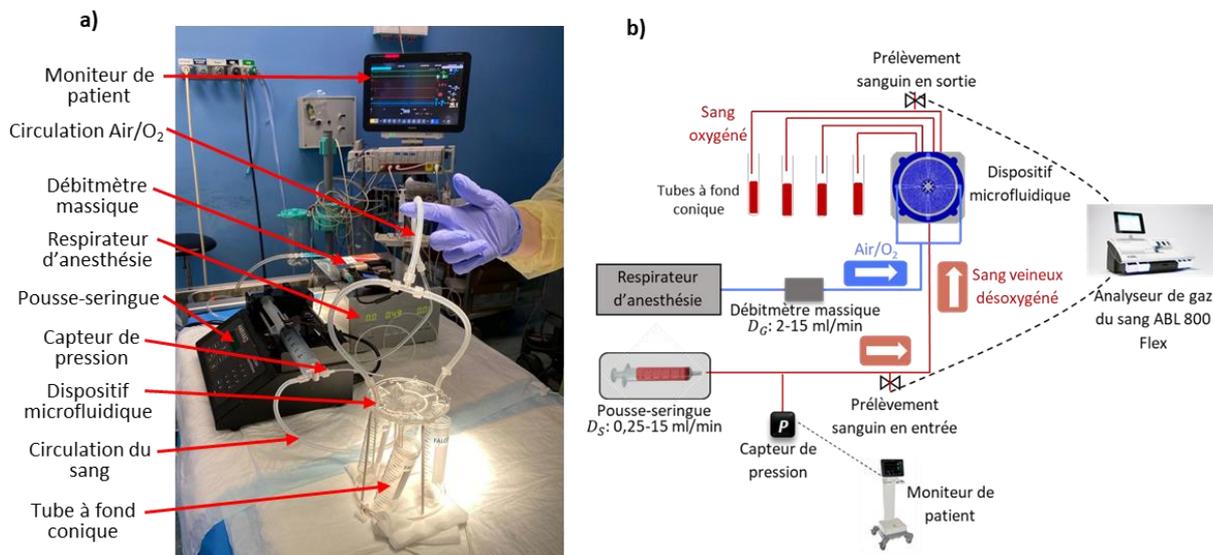


Figure 4.2. Représentation du banc expérimental pour la mesure d’oxygénation et de retrait du CO_2 , avec (a) une photo du montage réel et (b) une schématisation pour bien visualiser les différents éléments du circuit. D_S est de débit sanguin et D_G est le débit du gaz d’oxygénation.

Le banc expérimental microfluidique, représenté sur la figure 4.2, est installé à l’hôpital Marie Lannelongue afin de tester l’oxygénation et le retrait du dioxyde de carbone du sang de cochon au sein des dispositifs. 4 tubes à fond conique d’une contenance de 50 ml chacun sont positionnés sous le dispositif au niveau des 4 sorties des capillaires sanguins pour récupérer le sang en sortie. Un débitmètre massique thermique Bronkhorst (gamme de débit 2 ml/min–80 ml/min) est relié à un

respirateur d'anesthésie (*Clarys 2000, Taema*) afin de contrôler et réguler le débit du gaz d'oxygénation administré dans les microcanaux d'oxygénation. Le gaz d'oxygénation utilisé peut-être de l'air (20% d'oxygène), de l'oxygène pur (100% d'oxygène) ou un mélange air/oxygène avec un pourcentage d'oxygène choisi. Avant chaque expérimentation, les capillaires sanguins du dispositif sont tout d'abord nettoyés avec une solution de NaCl (*sodium chloride 0.9% B. Braun, solution for infusion*) pendant 30 min à un débit de 5 ml/min en utilisant un pousse-seringue (*PHD 2000 Harvard Apparatus*). Cela permet également de supprimer les bulles d'air du circuit avant d'injecter le sang. Le NaCl est ensuite remplacé par le sang de cochon veineux qui est envoyé dans le dispositif à des débits compris entre 0,25 et 15 ml/min suivant l'expérimentation. Le débit du gaz d'oxygénation est, quant à lui, toujours le même que le débit sanguin à partir de 2 ml/min. En effet, le débit minimum de gaz que délivre l'appareil Bronkhorst étant de 2 ml/min, le débit du gaz d'oxygénation est plus élevé que le débit sanguin pour les débits sanguins inférieurs à 2 ml/min. Enfin toutes les données sanguines, notamment la pression partielle en oxygène (PO_2), la pression partielle en dioxyde de carbone (PCO_2), la saturation en oxygène ($SatO_2$), le pH, le taux d'hématocrite (Hct) et la concentration totale en hémoglobine dans le sang ($ctHb(g)$) sont vérifiées en entrée et en sortie du dispositif pour chaque débit sanguin en utilisant un analyseur de gaz du sang Radiometer ABL800 Flex.

De plus, pour mesurer la chute de pression du sang pendant l'expérimentation, un capteur de pression (*TruWave d'Edwards Lifesciences*) connecté à un moniteur de patient (*90369, SpaceLabs Medical*) est introduit avant l'entrée du sang dans les capillaires sanguins.

I.2 – Capacité d'oxygénation et de retrait du CO_2 d'une structure tri-couches 4 pouces (modèles II, III et IV)

En utilisant le protocole ci-dessus, nous avons réalisé des expérimentations pour vérifier l'influence de plusieurs paramètres sur l'oxygénation et le retrait du CO_2 du sang avec :

- 1) Tout d'abord l'influence d'un revêtement albumine/héparine à l'intérieur des capillaires sanguins (géométrie modèle II).
- 2) L'influence de la hauteur des microcanaux, avec $H = 35 \mu m$ et $H = 85 \mu m$ (géométrie modèle IV).
- 3) L'influence de la concentration en oxygène du gaz d'oxygénation avec une comparaison entre oxygène pur et un mélange d'air/oxygène composé à 50% d'oxygène et 50% d'air (géométrie modèle III).
- 4) Et enfin, l'influence de la surface d'échange en utilisant la géométrie du modèle III et la géométrie du modèle IV qui possède une surface d'échange S_A différente.

Toutes les expériences ont été réalisées en fonction du débit sanguin, qui est le paramètre clé que l'on va chercher à maximiser pour les applications réelles. C'est aussi le paramètre qui va avoir un impact important sur l'oxygénation et le retrait du dioxyde de carbone, comme nous l'avons expliqué dans le chapitre 2. Il est important de déterminer le débit sanguin maximal, qui permettra d'obtenir une saturation en oxygène d'au moins 95% en sortie du dispositif, un taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone maximisé ainsi qu'une chute de pression dans les capillaires sanguins inférieure à 100 mmHg (voir partie II.3.3 du chapitre 2).

Pour chaque expérimentation, nous présentons donc l'évolution avec le débit sanguin de $SatO_2$ en sortie, ainsi que celles de la variation de ΔPO_2 et ΔPCO_2 entre l'entrée et la sortie du dispositif. D'autre part, comme expliqué plus haut, à cause de la $SatO_2$ du sang en entrée qui est trop élevée, la valeur du taux du transfert d'oxygène calculée n'est pas représentative de la valeur réelle. Le taux de transfert de gaz n'est donc pas calculé dans les expérimentations suivantes. Il le sera pour les expériences de la seconde campagne de mesure présentée en deuxième partie de ce chapitre. D'autre part, chaque expérimentation suivante n'a pas été répétée plusieurs fois donc nous ne pouvons pas indiquer de barres d'erreurs sur les courbes.

1.2.1 – Rôle de la présence d'un revêtement (albumine/héparine) dans les capillaires sanguins

Il est important de rappeler, dans un premier temps, la raison pour laquelle nous utilisons un revêtement des capillaires sanguins. Toute surface en contact avec le sang, autre que celle de l'endothélium de la paroi vasculaire intacte, induit une séquence de processus qui entraîne la formation de thrombus (caillots sanguins) [22]. Ces réactions protègent les organismes contre le saignement et les infections. Toutefois cela est un problème pour les dispositifs médicaux extracorporels faits de matériaux artificiels. Immédiatement après le contact avec le sang, les protéines plasmatiques s'adsorbent sur la surface du matériau. L'hydrophobicité naturelle du PDMS a tendance à particulièrement adsorber les protéines plasmatiques du sang, ce qui entraîne une activation des plaquettes et une coagulation du sang [9-11]. Bien que l'adsorption des protéines pose moins de problème avec le PDMS qu'avec d'autres polymères biomédicaux, le niveau de réponse du corps étranger demeure suffisamment élevé pour provoquer une thrombose. Pour répondre à ce problème et améliorer l'hémocompatibilité de la surface, des études récentes proposent des revêtements hémocompatibles des canaux microfluidiques : polyéthylène glycol (PEG), HA/PDA, heptamethyltrisiloxane [11-15]. Ces revêtements ont montré une amélioration significative de l'hémocompatibilité dans les microcanaux augmentant ainsi la durée de vie du dispositif. L'héparine immobilisée est connue pour avoir des effets bénéfiques sur l'hémocompatibilité des surfaces lorsqu'elle est appliquée dans des dispositifs de circulation extracorporelle [16-18], sur des matériaux de greffe [19] ou encore sur des membranes d'hémodialyse [20]. Le revêtement d'héparine est d'ailleurs efficace spécifiquement sur la surface du PDMS [21]. Des études montrent que l'association héparine-albumine réduit d'autant plus les interactions indésirables de la surface avec les protéines du plasma sanguin et améliore significativement l'hémocompatibilité des surfaces [22,23]. Une simple fixation de l'héparine sur une surface peut ne pas être optimale si la surface sous-jacente a une capacité de contact importante. L'albumine joue le rôle de couche primaire, plus compatible et compacte, capable de protéger efficacement les interactions directes du sang avec la surface [23]. Un revêtement tel que l'albumine-héparine pourrait donc améliorer l'hémocompatibilité de la surface des capillaires sanguins et ainsi augmenter la durée de vie de l'oxygénateur microfluidique.

Avant de tester la qualité du revêtement albumine-héparine sur l'hémocompatibilité de la surface, nous avons d'abord testé l'impact du revêtement sur la capacité d'échange de gaz du dispositif tri-couches. En effet, l'ajout d'un revêtement en surface de la membrane dans les capillaires sanguins pourrait ajouter une résistance à la diffusion non négligeable et limiter ainsi la diffusion de l'oxygène et du dioxyde de carbone au travers de la membrane.

Deux dispositifs composés de la géométrie du modèle II ont été analysés pendant cette expérience : un dispositif sans revêtement et un dispositif avec un revêtement albumine-héparine. Le gaz d'oxygénation utilisé est de l'air (21 % d'oxygène) et la hauteur des capillaires sanguins est de 35 μm . Pour ajouter un revêtement albumine-héparine sur la surface des capillaires sanguins, le dispositif a d'abord été nettoyé avec du NaCl pendant 30 min à un débit de 5 ml/min à l'aide d'un pousse-seringue Harvard. Les capillaires sanguins ont ensuite été remplis avec une solution composée d'1 unité/ml d'héparine (*Lovenox*) et d'1 mg/ml d'albumine (*HSA Sigma A1653*) diluée dans du PBS (*Corning culture cellulaire, solution saline dans un tampon de phosphate (1X)*). Le dispositif est incubé toute une nuit à 4°C. Un nettoyage de 30 min avec du NaCl à un débit de 5 ml/min termine le processus de revêtement.

ΔPO_2 , ΔPCO_2 ainsi que $SatO_2$ en sortie sont analysées pour un débit sanguin croissant allant de 0,25 ml/min à 5 ml/min. Le débit du gaz d'oxygénation est quant à lui de 2 ml/min pour les débits sanguins allant de 0,25 ml/min à 2 ml/min puis il est ensuite le même que le débit sanguin pour les débits allant de 2 à 15 ml/min (le débitmètre massique délivre un débit minimum de 2 ml/min pour le gaz d'oxygénation). Les résultats ainsi qu'une photo d'un dispositif sous flux de sang et d'air pendant l'expérimentation sont représentés dans la figure 4.3. Nous pouvons évoquer, sur la photo du dispositif sous flux (figure 4.3 (d)), qu'il y a d'importantes bulles d'air au niveau du réservoir circulaire du sang dues à une trop grande largeur du réservoir. Dans les prochaines expérimentations, nous utilisons des géométries évoluées (modèle III et modèle IV) dont la largeur du réservoir circulaire est réduite de moitié pour une meilleure uniformité du flux sanguin.

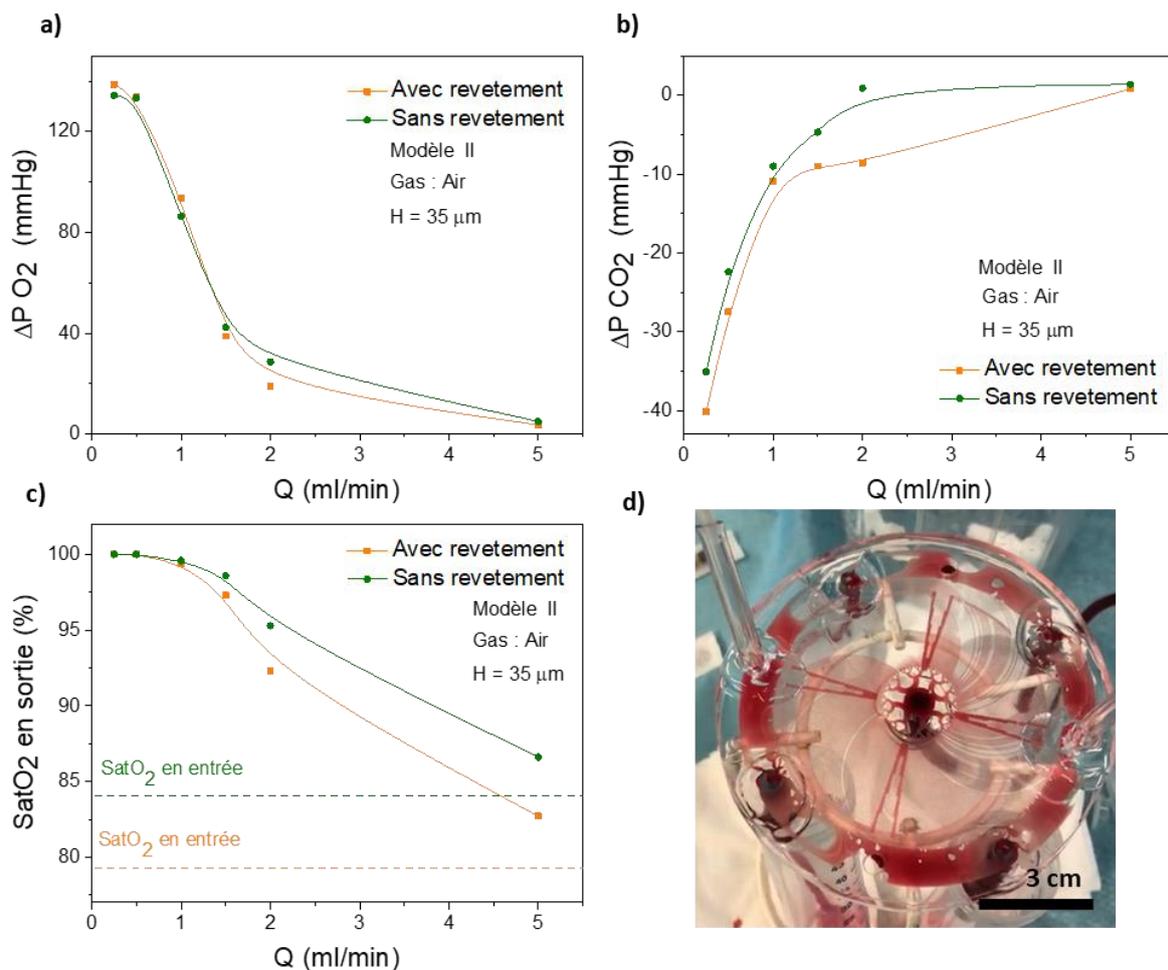


Figure 4.3. Résultats des expériences d'oxygénation et de retrait du CO₂ en fonction du débit sanguin pour un dispositif sans revêtement et un dispositif avec revêtement albumine-héparine, avec en (a) la variation avec le débit sanguin de ΔP O₂ et en (b) celle de ΔP CO₂ entre l'entrée et la sortie du dispositif, ainsi que (c) la variation avec le débit sanguin de SatO₂ en sortie. On peut également voir une photo d'un dispositif sous flux de sang et d'air pendant l'expérimentation (d). La hauteur des capillaires est fixe à 35 μm, la géométrie est celle du modèle II et le gaz d'oxygénation est de l'air.

Comme attendu, ΔP O₂ et ΔP CO₂ ainsi que SatO₂ en sortie chutent en fonction du débit sanguin. Il faut savoir que la très forte chute de pression dans le dispositif due à la faible hauteur des capillaires sanguin (35 μm) nous a contraint à stopper le débit sanguin à 5 ml/min. En effet, pour un débit sanguin de 2 ml/min, la chute de pression atteignait déjà les 300 mmHg.

D'autre part, on remarque que SatO₂ en sortie est inférieure à 95% à partir de 2 ml/min pour les deux dispositifs (92,3% pour le dispositif avec revêtement et 95,6% pour celui sans revêtement), puis chute, pour un débit sanguin de 5 ml/min, à 82,7% pour le dispositif avec revêtement et à 86,6 % pour le dispositif sans revêtement. L'air étant composé à 21% d'oxygène, cela ne fait pas de lui un gaz idéal pour l'oxygénation ; ce qui peut expliquer une faible saturation en oxygène en sortie. La hauteur des microcanaux d'oxygénation réduite dans cette première expérience à H = 35 μm peut également être à l'origine d'une mauvaise oxygénation. En effet, nous verrons plus loin qu'en dessous d'une hauteur H de 85-105 μm, nous supposons que la chute de pression dans le module de gaz est très élevée même à faible débit, ce qui peut induire une mauvaise circulation du gaz et donc un faible approvisionnement en oxygène et un mauvais relargage du dioxyde de carbone qui stagne dans les microcanaux d'oxygénation.

Il est intéressant de comparer les deux systèmes avec ou sans revêtement. La différence d'oxygénation et de retrait du CO_2 n'est pas flagrante sur les deux paramètres ΔPO_2 et ΔPCO_2 . ΔPCO_2 est d'ailleurs un peu plus élevée pour le dispositif avec revêtement, ce qui donne une estimation des barres d'erreurs. Pour $SatO_2$ en sortie, on remarque un léger écart entre les deux dispositifs à partir de 2 ml/min, avec au maximum une différence de 4% pour un débit sanguin de 5 ml/min. Cette différence sur $SatO_2$ en sortie peut être effectivement due au revêtement albumine-héparine, mais il peut également être la conséquence d'une $SatO_2$ différente en entrée du dispositif (voir lignes pointillées de la figure 4.3(e)). En effet, $SatO_2$ en entrée pour le dispositif avec revêtement a été mesurée à une valeur de 5% supérieure à celle du sang utilisé pour le dispositif sans revêtement. Cette différence peut être due à une variation de la saturation en oxygène au moment du prélèvement et/ou un mauvais mélange du sang dans la poche.

On peut conclure que le revêtement albumine-héparine ne modifie que très légèrement la capacité d'échange des gaz du microsystème. D'autres mesures devront être faites pour conclure, en utilisant au moins six dispositifs (trois dispositifs sans revêtement et trois dispositifs avec revêtement) et en contrôlant la saturation en oxygène en entrée (voir protocole 2 de prélèvement du sang qui sera présenté plus loin dans ce chapitre). Dans tous les cas, la capacité d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone ne variant que légèrement, ce revêtement pourra donc être utilisé pour améliorer l'hémocompatibilité de la surface du PDMS dans les capillaires sanguins.

Une prochaine expérimentation pourra être réalisée pour vérifier la qualité du revêtement albumine/héparine sur l'hémocompatibilité du système. En plus des analyses sanguines chimiques, la qualité du revêtement peut être estimé visuellement par les mesures des pressions de gaz et par la chute de pression ΔP . Pour cela, il faut faire circuler du sang veineux à un débit fixe pendant une durée suffisamment longue, de 3 heures par exemple, et mesurer PO_2 , PCO_2 , $SatO_2$ et ΔP , à intervalles de temps fixe, par exemple toutes les 30 minutes. En effet, lorsque le sang commence à coaguler au niveau des parois des capillaires sanguins en produisant des rétrécissements voire des bouchons, alors les trois paramètres PO_2 , PCO_2 , $SatO_2$ chutent tandis que la chute de pression ΔP augmente car la résistance hydraulique du réseau des capillaires sanguins augmente.

1.2.2 – Rôle de la hauteur H des microcanaux

Afin d'identifier l'importance de la hauteur des capillaires sanguins sur la capacité d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone, deux dispositifs avec deux hauteurs des capillaires sanguins différentes ont été testés : un dispositif composé de capillaires sanguins d'une hauteur H de 35 μm et un dispositif composé de capillaires sanguins d'une hauteur H de 85 μm . **Pour rappel, la hauteur des capillaires sanguins et la hauteur des microcanaux d'oxygénation est la même pour chaque dispositif.** Le gaz d'oxygénation est ici de l'oxygène pur et la géométrie utilisée est celle du modèle IV. Le modèle IV présente une largeur des capillaires sanguins deux fois plus grande que celle du modèle III (voir partie I du chapitre 2), ce qui réduit grandement la chute de pression. C'est pour cette raison que nous utilisons cette géométrie lorsque H est inférieure à 85 μm car, comme cela a été montré au chapitre 2 puis observé lors de l'expérimentation précédente, la géométrie du modèle III conduit à des valeurs de chute de pression ΔP beaucoup trop importante pour $H = 35 \mu\text{m}$, ajoutant un risque de décollement des modules de la membrane.

Comme précédemment, ΔPO_2 , ΔPCO_2 ainsi que $SatO_2$ en sortie sont mesurées pour un débit sanguin allant de 0,5 ml/min à 15 ml/min. Le débit du gaz d'oxygénation pour chaque débit sanguin est le

même que décrit précédemment (voir partie I.2.1 de ce chapitre). Les résultats sont présentés dans la figure 4.4. A noter que pendant l'expérience, le débit du gaz d'oxygénation a été limité à 12 ml/min pour le dispositif avec $H = 35 \mu\text{m}$, car la chute de pression dans les microcanaux d'oxygénation était trop élevée.

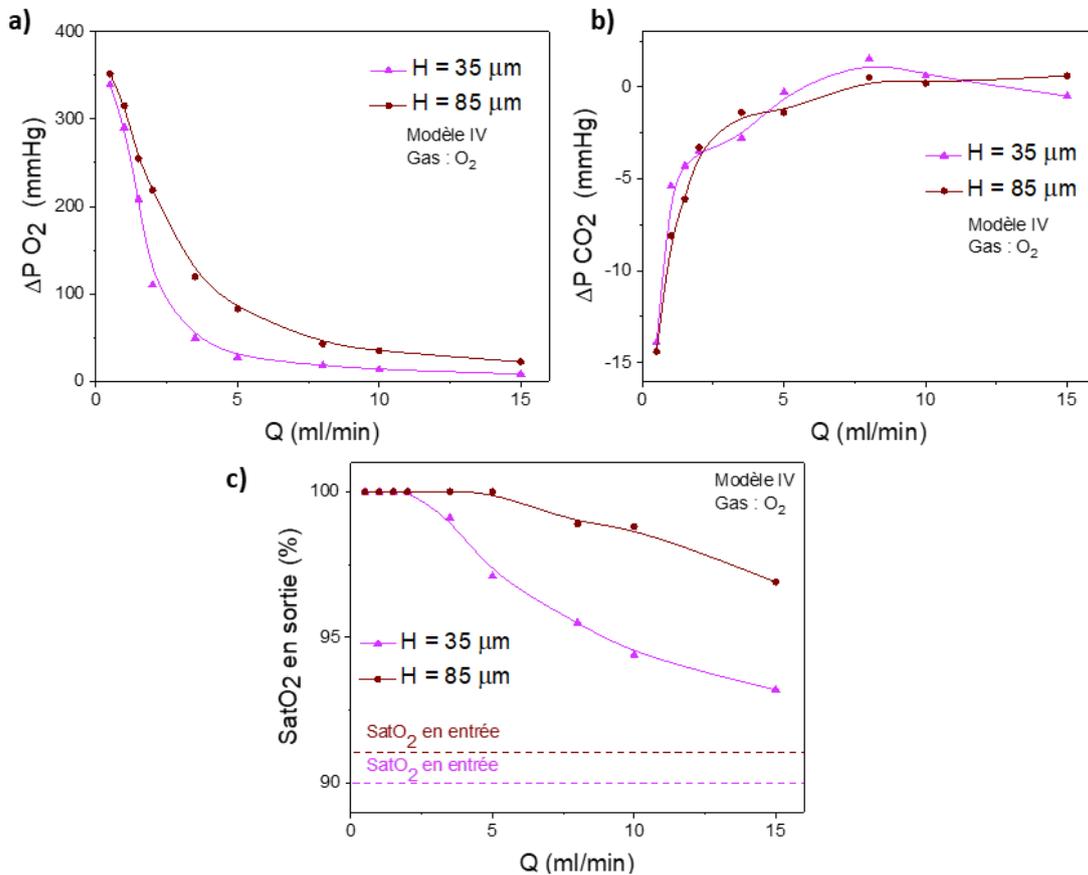


Figure 4.4. Résultats des expérimentations d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone en fonction du débit sanguin pour deux dispositifs avec des réseaux de capillaires de deux hauteurs différentes $H = 35 \mu\text{m}$ et $H = 85 \mu\text{m}$, avec en (a) la variation avec le débit sanguin de ΔPO_2 et en (b) celle de ΔPCO_2 entre l'entrée et la sortie du dispositif, ainsi que (c) la variation avec le débit sanguin de SatO₂ en sortie. La géométrie utilisée est celle du modèle IV et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur.

On remarque premièrement que ΔPO_2 est plus faible pour $H = 35 \mu\text{m}$ que pour $H = 85 \mu\text{m}$ pour tous les débits sanguins. Entre les débits sanguins de 2 et 8 ml/min, l'écart est le plus important. Par exemple, pour un débit de 5 ml/min, ΔPO_2 vaut 27,1 mmHg pour $H = 35 \mu\text{m}$ alors qu'elle est de 82,5 mmHg pour $H = 85 \mu\text{m}$. A partir de 10 ml/min, les valeurs de ΔPO_2 pour les deux hauteurs de capillaires se rapprochent. En effet, à partir d'un certain débit sanguin Q , Q devient le paramètre le plus influent des échanges gazeux. Pour un débit sanguin de 15 ml/min, $\Delta PO_2 = 8$ mmHg pour $H = 35 \mu\text{m}$ et $\Delta PO_2 = 22,1$ mmHg pour $H = 85 \mu\text{m}$.

En première lecture, ces résultats semblent non cohérents avec nos calculs théoriques présentés dans le chapitre 2. En effet, nous montrons partie IV du chapitre 2, que plus la hauteur des capillaires sanguins est petite, meilleure est l'oxygénation, car l'oxygène a moins de chemin à parcourir pour se lier à l'hémoglobine d'un globule rouge. Puisque le modèle mathématique pour les simulations numériques suppose un réservoir d'oxygène infini de l'autre côté de la membrane et ne prend donc pas en compte la présence des microcanaux d'oxygénation, **l'hypothèse la plus probable est que la**

chute de pression dans les microcanaux d'oxygénation est trop élevée, ce qui induit une mauvaise circulation du gaz et donc un faible approvisionnement en oxygène.

Concernant la variation de pression partielle en dioxyde de carbone (ΔPCO_2), il semble qu'il n'y ait presque pas de différence entre les deux hauteurs de capillaires sanguins. D'après les calculs numériques, ΔPCO_2 est censée être plus importante pour une hauteur de 35 μm que pour une hauteur de 85 μm , car le dioxyde de carbone a moins de chemins à parcourir pour être relargué des capillaires sanguins. Cela confirme l'hypothèse d'une mauvaise circulation du gaz dans les microcanaux d'oxygénation. **Par conséquent, en plus d'un mauvais approvisionnement en oxygène, il doit exister un mauvais relargage du dioxyde de carbone qui stagne dans les microcanaux de gaz.**

Comme attendu, car la pression partielle est liée à la saturation en oxygène, $SatO_2$ en sortie est plus faible pour $H = 35 \mu m$ que pour $H = 85 \mu m$ à partir d'un débit sanguin de 2 ml/min. Pour un débit sanguin de 15 ml/min, $SatO_2 = 93,2\%$ pour $H = 35 \mu m$, alors que $SatO_2 = 96,9\%$ pour $H = 85 \mu m$.

Toujours pour un débit sanguin de 15 ml/min, la chute de pression ΔP dans les capillaires sanguins est de 335 mmHg pour $H = 35 \mu m$ et de 98 mmHg pour $H = 85 \mu m$.

Nous pouvons donc à partir de ces expériences en conclure que la hauteur $H = 35 \mu m$ n'est pas adéquate pour notre application, pour les deux réseaux de microcanaux :

1/ pour les capillaires sanguins $H = 35 \mu m$ est trop faible car ΔP est très vite supérieure à 100 mmHg même à de très petits débits sanguins (pour les deux modèles III et IV – courbes non présentées ici)

2/ pour les microcanaux d'oxygénation $H = 35 \mu m$ n'est pas adaptée, car la chute de pression est également beaucoup trop élevée, à cause d'une résistance hydraulique trop grande. Ceci induit une mauvaise circulation des gaz et, par conséquent, un mauvais approvisionnement en oxygène et un mauvais relargage du dioxyde de carbone.

1.2.3 – Rôle du pourcentage d'oxygène dans le gaz d'oxygénation

Afin d'identifier l'influence du pourcentage d'oxygène du gaz d'oxygénation sur la capacité d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone, nous avons effectué des mesures sur deux dispositifs similaires, en présence de deux compositions différentes du gaz d'oxygénation. **Cette analyse est importante car en application clinique, les médecins abaissent parfois le pourcentage d'oxygène dans les systèmes ECMO, sur des temps courts, car l'oxygène pur peut être agressif sur le sang à long terme.** Pour le premier dispositif, nous injectons de l'oxygène pur dans les microcanaux d'oxygénation alors que, dans le deuxième dispositif, nous injectons un mélange d'air/oxygène composé à 50% d'air et 50% d'oxygène (air/O₂ (50%/50%)). Il faut mentionner que la proportion d'oxygène dans le mélange sera de 60,5% sachant qu'il y a 21% d'oxygène dans l'air. La hauteur des capillaires sanguins est $H = 85 \mu m$ et la géométrie utilisée est celle du modèle III. Comme précédemment, ΔPO_2 , ΔPCO_2 ainsi que $SatO_2$ en sortie sont mesurées pour un débit sanguin allant de 0,5 ml/min à 15 ml/min. Les résultats ainsi qu'une image extraite d'une vidéo d'un dispositif sous flux de sang et de gaz pendant l'expérimentation sont représentés dans la figure 4.5. Par ailleurs sur la photo du dispositif sous flux (figure 4.5. (d)), nous remarquons qu'il n'y a presque pas de bulles d'air stagnantes dans le réservoir circulaire comparé à la géométrie du modèle II (voir figure 4.3 (d)). Dans la description de la figure 4.5, un lien pour visualiser la vidéo du dispositif sous flux est mentionné.

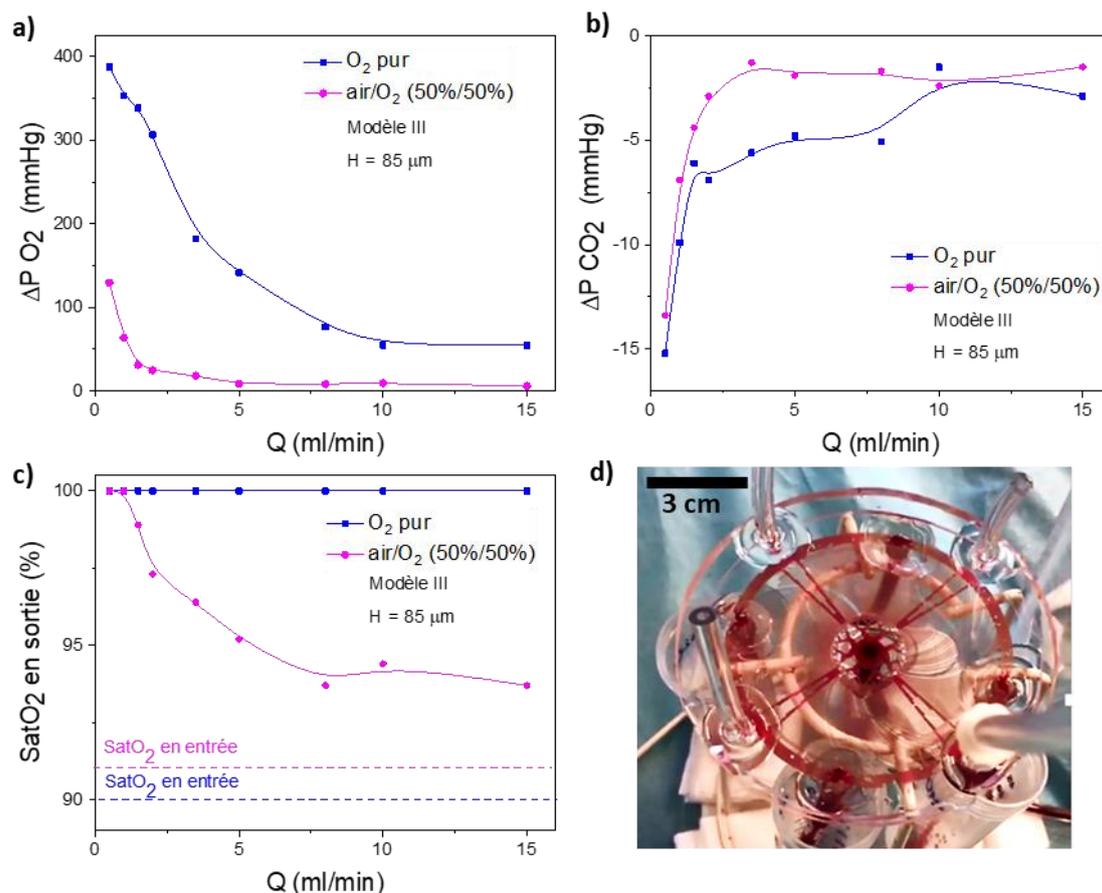


Figure 4.5. Résultats des expérimentations d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone en fonction du débit sanguin pour un dispositif dont le gaz d'oxygénation est un mélange d'air/oxygène composé à 50% d'oxygène et 50% d'air (air/O₂ (50%/50%)) et pour un dispositif similaire dont le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur, avec en (a) la variation avec le débit sanguin de ΔPO_2 et en (b) celle de ΔPCO_2 entre l'entrée et la sortie du dispositif, ainsi que (c) la variation avec le débit sanguin de SatO₂ en sortie. La géométrie utilisée est celle du modèle III et la hauteur des capillaires sanguins est de 85 μm. On peut également voir une image extraite d'une vidéo d'un dispositif sous flux de sang et de gaz d'oxygénation pendant l'expérimentation (d) avec un lien pour la visualiser : [dispositif modèle III sous flux de sang et de gaz \[31\]](#).

Nous remarquons que ΔPO_2 est bien plus faible, pour tous les débits sanguins, avec le gaz air/O₂ (50%/50%) qu'avec de l'oxygène pur. Avec air/O₂ (50%/50%), ΔPO_2 atteint un minimum à partir de 5 ml/min et stagne jusqu'à 15 ml/min. Pour un débit de 5 ml/min, ΔPO_2 est égale à 141,5 mmHg avec O₂ pur, alors qu'elle est égale à 8 mmHg avec air/O₂ (50%/50%).

ΔPCO_2 pour les deux gaz d'oxygénation est équivalente de 0,5 ml/min à 1,5 ml/min. Un écart se creuse ensuite entre 2 et 8 ml/min, puis devient de nouveau presque identique pour 10 et 15 ml/min. Pour un débit de 5 ml/min, ΔPCO_2 est égale à 4,8 mmHg avec O₂ pur alors qu'elle est égale à 1,9 mmHg avec air/O₂ (50%/50%). La différence entre les deux gaz d'oxygénation n'est pas censée modifier la variation de pression partielle en dioxyde de carbone. En effet, la concentration de dioxyde de carbone dans l'air est très faible (0,04%) ce qui la rend négligeable. Il ne devrait donc pas y avoir de différence sur ΔPCO_2 . Il serait intéressant de refaire cette expérimentation sur plusieurs dispositifs pour déterminer les erreurs de mesure et vérifier si les écarts observés ici correspondent aux barres d'erreurs.

$SatO_2$ en sortie est plus faible avec le gaz air/O₂ (50%/50%) qu'avec de l'oxygène pur à partir de 1,5 ml/min. Après le débit de 5 ml/min, $SatO_2$ en sortie est d'ailleurs inférieure à 95% malgré une saturation en oxygène en entrée très élevée de 91%. A titre de comparaison, $SatO_2$ en sortie avec de l'oxygène pur comme gaz d'oxygénation est à 100% pour tous les débits sanguins jusqu'à 15 ml/min.

Nous pouvons conclure que la composition du gaz d'oxygénation fait partie des paramètres importants. **Nous choisissons donc pour la suite de travailler avec de l'oxygène pur afin d'augmenter au maximum le taux de transfert d'oxygène, et de pouvoir confronter nos résultats expérimentaux avec nos calculs théoriques du chapitre 2.**

I.2.4 – Rôle de la surface d'échange

Pour déterminer l'influence de la surface d'échange S_A sur la capacité d'échange gazeux, deux dispositifs avec des surfaces d'échange différentes sont analysés et comparés : un dispositif composé de la géométrie modèle III et un dispositif composé de la géométrie modèle IV.

Pour rappel, la géométrie modèle III comprend 256 capillaires sanguins d'une largeur de 200 μm pour une surface d'échange totale de 10,71 cm^2 . La géométrie modèle IV intègre 160 capillaires d'une largeur de 400 μm pour une surface d'échange de 9,66 cm^2 (voir partie I du chapitre 2). Même si la largeur des capillaires sanguins est augmentée d'un facteur 2 pour le modèle IV, la forte diminution du nombre de capillaires réduit par conséquent la surface d'échange du modèle IV de 9,8 % par rapport à la surface d'échange du modèle III. La hauteur des capillaires sanguins reste fixe à $H = 85 \mu\text{m}$ et le gaz d'oxygénation utilisé est de l'oxygène pur. Comme précédemment, ΔPO_2 , ΔPCO_2 ainsi que $SatO_2$ en sortie sont mesurées pour un débit sanguin allant de 0,5 ml/min à 15 ml/min. Les résultats sont présentés dans la figure 4.6.

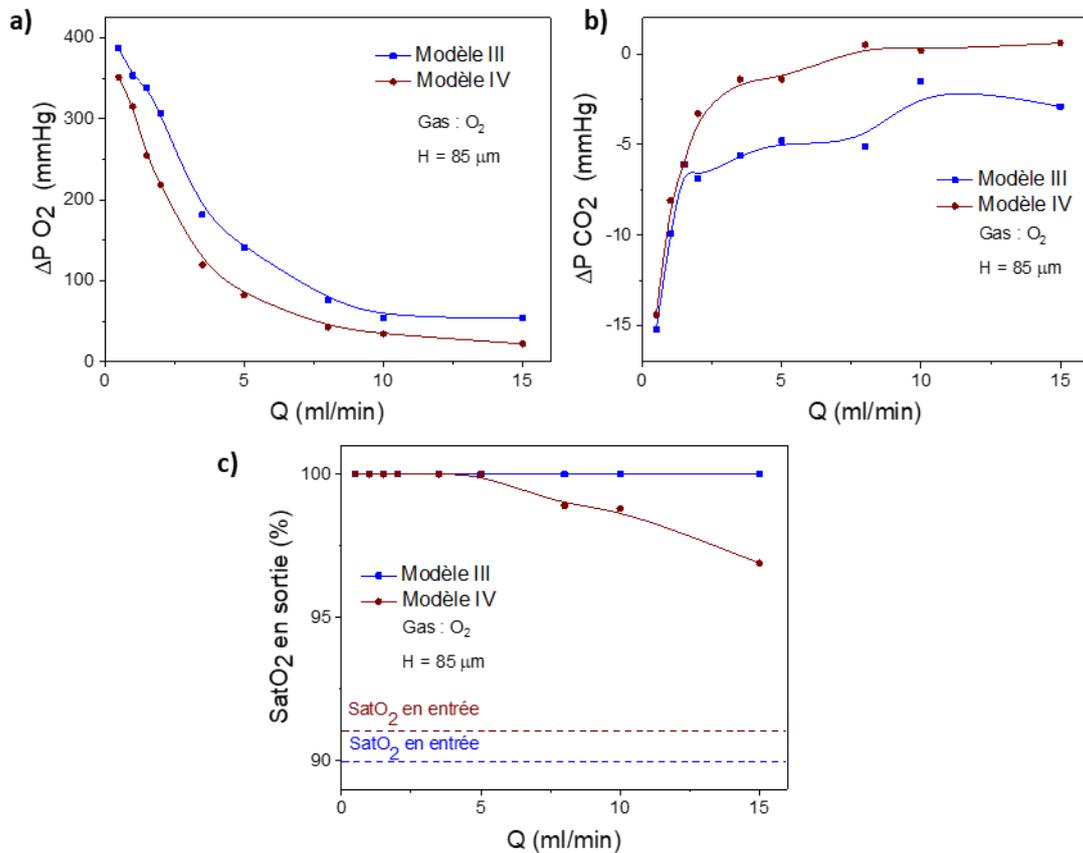


Figure 4.6. Résultats des expérimentations d'oxygénation et retrait du dioxyde de carbone en fonction du débit sanguin pour un dispositif modèle III et un dispositif modèle IV, avec en (a) la variation avec le débit sanguin de ΔPO_2 et en (b) celle de ΔPCO_2 entre l'entrée et la sortie du dispositif, ainsi que (c) la variation avec le débit sanguin de $SatO_2$ en sortie. La hauteur des capillaires est fixe à $85 \mu m$ et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur. Pour rappel, la surface d'échange du modèle III et du modèle IV est respectivement de $10,71 \text{ cm}^2$ et $9,66 \text{ cm}^2$.

On remarque tout de suite que ΔPO_2 est bien meilleure pour le modèle III. En effet, il y a un écart important entre les courbes ΔPO_2 du modèle III et ΔPO_2 du modèle IV. En moyenne, cet écart est de 50 mmHg pour chaque débit sanguin. La capacité de retrait du CO₂ est également meilleure pour le modèle III. Il y a un écart important entre les courbes ΔPCO_2 du modèle III et ΔPCO_2 du modèle IV à partir de 1,5 ml/min. Enfin, $SatO_2$ en sortie s'abaisse pour le modèle IV à partir de 5 ml/min pour arriver à une valeur de 97% pour un débit sanguin de 15 ml/min, alors que $SatO_2$ en sortie pour le modèle III reste constante avec une valeur de 100% jusqu'à 15 ml/min.

Il faut mentionner que pour un débit de sanguin de 15 ml/min, on relève une valeur de chute de pression ΔP de 160 mmHg pour le modèle III et de 98 mmHg pour le modèle IV. Même si la surface d'échange est moins grande pour le modèle IV, on notera que l'élargissement de la largeur des capillaires réduit fortement la chute de pression.

Comme cela avait déjà été constaté dans les calculs théoriques du chapitre 2, **nous pouvons conclure que la surface d'échange joue un rôle très important sur l'oxygénation et le retrait du dioxyde de carbone. Plus la surface d'échange sera importante, meilleur sera l'oxygénation et le retrait du dioxyde de carbone.**

I.2.5 – Conclusion

Ces premières campagnes de mesures nous ont permis de déterminer les paramètres les plus influents sur la capacité d'échange des gaz dans le système, en complément des paramètres qui avaient été identifiés dans les calculs numériques présentés au chapitre 2. En effet, en utilisant le modèle mathématique de Potkay (partie III.3 du chapitre 2), nous avons constaté que le débit sanguin Q , la hauteur des capillaires H ainsi que la surface d'échange S_A sont des paramètres clés pour augmenter les performances d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone. Lors de ces premières expériences, nous remarquons qu'effectivement ces trois paramètres jouent un rôle important sur l'oxygénation et le retrait du CO_2 . Par ailleurs, nous constatons que deux autres facteurs sont aussi fondamentaux : la nature du gaz d'oxygénation ainsi que la hauteur des microcanaux d'oxygénation. Ces deux facteurs n'ont pas été identifiés théoriquement, car le modèle mathématique « simplifié » de Potkay ne prend pas en compte les microcanaux d'oxygénation et leur géométrie, puisqu'il suppose un réservoir infini du côté gazeux de la membrane.

Pour résumer cette première campagne d'expériences, nous remarquons, en première analyse, que le revêtement albumine/héparine ne modifie que très peu l'oxygénation et le retrait du CO_2 du sang. D'autres expérimentations doivent néanmoins être faites pour confirmer ce résultat, notamment sur plus de dispositifs et avec une saturation en oxygène en entrée moins élevée. A l'avenir, une prochaine expérience pourra être réalisée pour tester le rôle du revêtement albumine/héparine sur l'hémocompatibilité du dispositif.

Concernant la surface d'échange, nous constatons que l'oxygénation et le retrait du dioxyde de carbone sont bien meilleurs pour un dispositif avec la géométrie modèle III que pour un dispositif avec la géométrie modèle IV. Pour rappel, la géométrie modèle IV présente une surface d'échange 9,8% moins grande que celle du modèle III. La surface d'échange est donc un paramètre essentiel. C'est pourquoi, pour la suite des expérimentations, nous utilisons des dispositifs ayant la géométrie modèle III.

D'autre part, d'après les calculs numériques du chapitre 2, plus la hauteur des capillaires sanguins est petite, meilleure sont l'oxygénation et le retrait du CO_2 . Cependant, expérimentalement, nous observons que les résultats sont moins bons pour une hauteur de capillaires de 35 μm que pour une hauteur de capillaires de 85 μm . Cela est probablement dû au fait que la hauteur des capillaires sanguins est la même que la hauteur des microcanaux d'oxygénation. Nous n'avons pas mesuré la chute de pression dans les microcanaux d'oxygénation (cette expérimentation est en perspective d'étude) mais nous supposons que la chute de pression est beaucoup trop élevée dans les microcanaux d'oxygénation d'une hauteur de 35 μm , ce qui empêche une bonne circulation du gaz d'oxygénation, et par conséquent réduit l'approvisionnement en oxygène et empêche le dioxyde de carbone d'être rapidement évacué.

Nous pourrions augmenter la hauteur des microcanaux d'oxygénation tout en gardant une hauteur de capillaires sanguins de 35 μm , mais cette hauteur est, dans tous les cas, non adéquate car la chute de pression dans les capillaires est déjà supérieure à 100 mmHg même pour le plus petit débit sanguin de 1ml/min. La hauteur des capillaires de 85 μm , qui délivre des chutes de pression bien plus raisonnables, donne néanmoins des valeurs supérieures à 100 mmHg à partir de 10 ml/min. Il est donc nécessaire de tester des hauteurs de capillaires sanguins plus élevées qui permettront de réduire la chute de pression tout en proposant un échange de gaz efficace. Pour les prochaines expériences, nous travaillerons avec des dispositifs composés de capillaires sanguins de hauteur $H = 85 \mu\text{m}$ et $H = 105 \mu\text{m}$. Comme précédemment, la hauteur des microcanaux d'oxygénation sera la même que les capillaires sanguins.

D'autre part, nous remarquons que l'oxygénation et le retrait du dioxyde de carbone ne sont pas efficaces lorsque le gaz d'oxygénation n'est pas de l'oxygène pur. Afin de maximiser l'échange de gaz et d'augmenter le taux de transfert d'oxygène, nous choisissons de travailler, pour les prochaines expérimentations, avec de l'oxygène pur.

Enfin, il est nécessaire d'optimiser le protocole de prélèvement sanguin sur les cochons. La saturation en oxygène est trop élevée en entrée pour un sang censé être veineux, ce qui ne nous permet pas de déterminer la véritable capacité d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone du dispositif.

II – Les mesures optimales d’un dispositif tri-couches optimisé (modèle III)

II.1 – Nouveau protocole de prélèvement du sang veineux de cochon (2nd protocole)

Comme pour le premier protocole de prélèvement du sang (partie I.1.1 de ce chapitre), après une prémédication puis une anesthésie de l’animal (*Propofol IV* (3 mg/kg, *PROPOVET*® 10mg/ml, ampoule de 20ml) / *Cisatracurium* (0,3 mg/kg *NIMBEX*®, 2mg/ml) / *Sufentanil IV* (10 µg/kg/h), une sonde endotrachéale est placée dans la trachée pour pouvoir ventiler l’animal à l’aide d’un mélange gazeux humidifié (chauffé à 38°C) avec une FiO_2 (fraction d’oxygène inspiré) de 0,3 délivré à 8 l/min. **La principale différence avec l’ancien protocole est qu’ici, la FiO_2 est baissée jusqu’à l’obtention d’une saturation en oxygène de 65% ($\pm 5\%$). Nous avons remarqué que c’est pour une FiO_2 d’environ 0,15 que l’on obtient une saturation en oxygène de sang d’environ 65%.** Le sang est ensuite rapidement collecté dans la veine cave supérieure via un introducteur de 7 French (2,33 mm) placé dans le tronc veineux innominé (TVI) (comme précédemment). À la fin du prélèvement, l’animal est euthanasié par injection d’une surdose de pentobarbital sodique à usage vétérinaire. La dose utilisée est de 150 mg/kg par voie intraveineuse. Le sang est ensuite stocké comme précédemment : de l’héparine (5000 UI par litre) est ajoutée dans le sang prélevé pour prévenir la coagulation. La poche de sang est laissée à température ambiante et sous agitation pour empêcher la sédimentation des cellules. Le sang est utilisé pour les expérimentations pendant environ 7h.

Les autres groupes de recherche actuels [1-5] utilisent un système ECMO pour ajuster la saturation en oxygène en entrée. Le système est alimenté par un gaz neutre (en général de l’azote) à l’intérieur des fibres du dispositif pendant que le sang circule entre les fibres à un débit compris entre 15 et 25 ml/min. Une fois que le sang a atteint la saturation souhaitée, il est transféré dans un oxygénateur microfluidique pour tester sa capacité d’oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone. Cette méthode d’ajustement de la $SatO_2$ présente un inconvénient non négligeable, celui de potentiellement activer les plaquettes sanguines en créant une coagulation avant même l’injection dans l’oxygénateur microfluidique. En utilisant notre méthode de prélèvement, il y a potentiellement moins de risque de coagulation avant l’entrée du sang dans le dispositif.

	PO_2 (mmHg)	PCO_2 (mmHg)	$SatO_2$ (%)
Valeurs de référence des gaz du sang veineux de cochon d’après Bekheit et coll. [24]	37,32 \pm 9,1	55,37 \pm 13,36	64,27 \pm 14,89
Valeurs des gaz du sang veineux obtenus lors du 1 ^{er} protocole de prélèvement de sang	69,3 \pm 5,1	52 \pm 7,7	90,2 \pm 5,2
Valeurs des gaz du sang veineux obtenus lors du 2 ^{eme} protocole de prélèvement de sang	48,1 \pm 6,8	54,4 \pm 4,5	63,7 \pm 3,1

Tableau 4.2. Valeurs de référence des gaz du sang veineux de cochon d’après Bekheit et coll. [24] comparées aux valeurs de gaz du sang veineux de cochon moyennes obtenues lors du 1^{er} protocole de prélèvement du sang et celles obtenues lors du 2^{eme} protocole de prélèvement du sang.

Le tableau 4.2 présente les valeurs de référence des gaz du sang veineux de cochon décrites par Bekheit *et coll.* [24], comparées aux valeurs moyennes de gaz du sang obtenus lors du 1^{er} protocole de prélèvement du sang, et celles obtenues lors du 2^{ème} protocole de prélèvement du sang présenté ci-dessus (pour 10 prélèvements). Pour le 2^{ème} protocole de prélèvement, on remarque que PO_2 et $SatO_2$ se rapprochent des valeurs de référence pour un sang veineux. De plus $SatO_2$ varie moins d'un prélèvement à un autre.

II.2 – La capacité maximale d'oxygénation et de retrait du CO_2 d'une structure tri-couches de géométrie optimale modèle III

II.2.1 – Rôle de la hauteur des microcanaux

Le but de cette expérience est de déterminer une hauteur optimale du réseau de capillaires avec des paramètres sanguins optimisés grâce au nouveau protocole de prélèvement. Nous avons analysé six dispositifs, trois avec une hauteur de capillaires $H = 85 \mu m$, et trois avec une hauteur de capillaires $H = 105 \mu m$. La répétition de trois mesures avec trois dispositifs similaires nous permet de donner, sur chaque courbe mesurée, des valeurs qui correspondent à la moyenne des trois analyses, avec les barres d'erreurs associées. La géométrie est celle du modèle III et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur. ΔPO_2 et ΔPCO_2 entre l'entrée et la sortie du dispositif ainsi que $SatO_2$ en sortie sont mesurées pour un débit sanguin allant de 0,5 ml/min à 15 ml/min. La chute de pression est également mesurée. Le taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone sont calculés pour chaque débit sanguin (pour rappel, le calcul du taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone est expliqué partie III.3.2 et III.3.3 du chapitre 2). Les résultats sont présentés dans la figure 4.7.

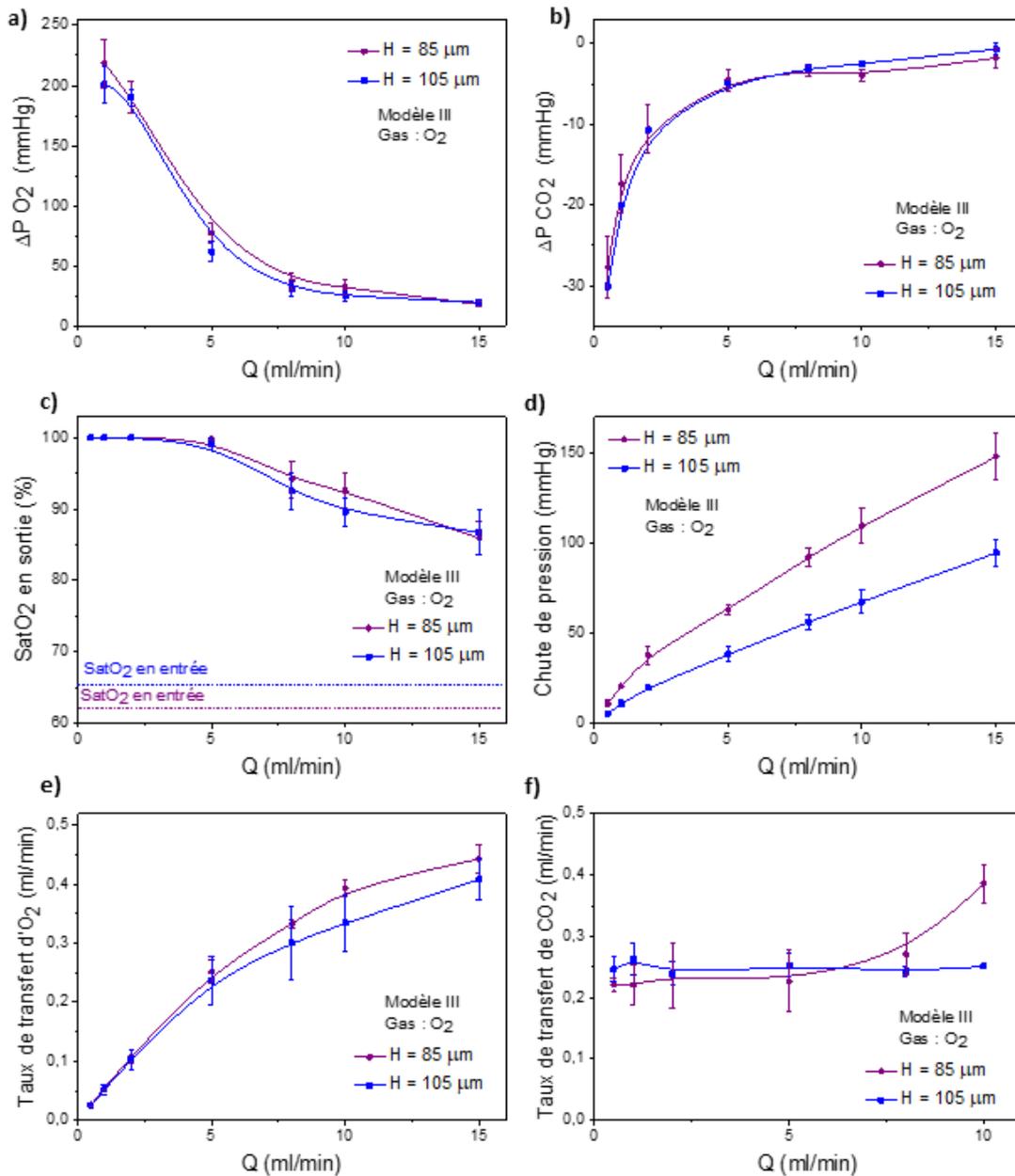


Figure 4.7. Résultats des expérimentations d'oxygénation et de retrait du CO₂ en fonction du débit sanguin Q pour 3 dispositifs avec $H = 85 \mu\text{m}$ et 3 dispositifs avec $H = 105 \mu\text{m}$, avec en (a) ΔP_{O_2} , en (b) ΔP_{CO_2} , en (c) SatO₂ en sortie, en (d) chute de pression ΔP , en (e) le taux de transfert d'oxygène, et en (f) le taux de transfert de dioxyde de carbone en fonction du débit sanguin Q . Chaque point correspond à la moyenne des trois analyses, avec les barres d'erreurs associées. La géométrie utilisée est celle du modèle III et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur.

Nous pouvons constater premièrement, comme attendu, que ΔP_{O_2} et ΔP_{CO_2} ainsi que SatO₂ chutent lorsque le débit sanguin augmente. Pour $H = 85 \mu\text{m}$, entre 0,5 ml/min et 5 ml/min, ΔP_{O_2} chute de 70% alors que ΔP_{CO_2} chute de 84% (figures 4.7 (a) et (b)). Il semble que l'augmentation du débit sanguin affecte plus la pression partielle en dioxyde de carbone que la pression partielle en oxygène.

Rieper et coll. [1] a montré que pour un débit sanguin et pour une hauteur de capillaire fixe, la pression partielle en dioxyde de carbone est plus dépendante de la longueur des capillaires (et donc de la surface d'échange et du temps de rétention du sang dans les capillaires) que la pression partielle en oxygène. **Le sang sature donc plus rapidement en oxygène qu'il ne relargue du dioxyde de carbone. Pour des valeurs de pression partielle en dioxyde de carbone plus élevées à haut débit sanguin, la solution serait d'augmenter la taille du dispositif en surface (5 à 6 pouces) pour augmenter ainsi la longueur des capillaires sanguins tout en agrandissant la surface d'échange.** Il faudra néanmoins considérer la chute de pression qui augmente avec la longueur des capillaires sanguins.

Même si l'augmentation du débit sanguin fait chuter drastiquement les pressions partielles, il faut noter néanmoins que la saturation en oxygène reste maximale à 100% jusqu'à 2 ml/min pour les deux hauteurs de capillaires sanguins. Ce qui est remarquable, c'est qu'elle reste ensuite égale ou supérieure à 90% jusqu'à 10 ml/min (figure 4.7 (c)). Pour un débit sanguin de 15 ml/min, $SatO_2$ en sortie chute légèrement à 86% et 86,7%, respectivement pour $H = 85 \mu\text{m}$ et $H = 105 \mu\text{m}$.

On remarque qu'il n'y a pas de différences frappantes des valeurs de ΔPO_2 , ΔPCO_2 et $SatO_2$ en sortie pour les deux hauteurs de capillaires de 85 et 105 μm , même si la courbe de 85 μm a tendance à être toujours légèrement supérieure. **Une différence de 20 μm n'a donc pas de grande influence sur la performance d'oxygénation et de retrait du CO_2 .**

En revanche il y a une différence importante sur la chute de pression ΔP dans le dispositif, surtout pour les hauts débits sanguins. Ainsi pour un débit sanguin de 10 ml/min, $\Delta P = 61$ mmHg pour $H = 105 \mu\text{m}$ alors que $\Delta P = 108$ mmHg pour $H = 85 \mu\text{m}$, soit presque 2 fois plus élevée (Figure 4.7 (d)). En conclusion, $H = 105 \mu\text{m}$ semble optimale puisque ΔP n'excède jamais 90 mmHg même pour un débit sanguin de 15 ml/min. **Au vu des débits sanguins avec lesquelles nous souhaitons travailler (entre 5 ml/min et 15 ml/min), la hauteur de capillaire $H = 105 \mu\text{m}$ semble donc la plus intéressante.** Elle permet une oxygénation acceptable du dispositif (90 % de saturation en oxygène en sortie pour un débit de 10 ml/min) tout en gardant une chute de pression inférieure à 100 mmHg jusqu'à 15 ml/min.

D'autre part, comme nous pouvons le voir en annexe 8, l'influence du débit du gaz d'oxygénation (pour un débit sanguin fixe de 5 ml/min) sur ΔPO_2 , ΔPCO_2 et $SatO_2$ en sortie ainsi que sur ΔP pour un dispositif modèle III d'une hauteur $H = 85 \mu\text{m}$. On remarque que ΔPO_2 et ΔPCO_2 ainsi que $SatO_2$ en sortie chutent avec l'augmentation du débit du gaz alors que la chute de pression dans le sang augmente. On peut émettre l'hypothèse que la chute de de pression dans les microcanaux d'oxygénation d'une hauteur de 85 μm est toujours trop élevée à haut débit de gaz jusqu'à 15 ml/min. Ceci induit une mauvaise circulation des gaz comme décrit plus haut et réduit par conséquent l'échange de gaz. Il conviendra par la suite d'étudier des hauteurs de microcanaux d'oxygénation plus élevées comprises entre 100 et 200 μm de hauteur.

Enfin il est important de mentionner que les écarts de valeurs de ΔPO_2 , ΔPCO_2 et $SatO_2$ en sortie entre les dispositifs identiques, qui correspondent aux barres d'erreur, sont principalement dus à la variation des propriétés du sang avant chaque expérience. Premièrement, le sang est différent d'un cochon à un autre : le pH et le taux d'hématocrite Hct , ou la concentration d'hémoglobine $ctHb(g)$ peuvent varier en fonction de l'âge, du sexe, du poids et de la santé du cochon. Ces valeurs peuvent modifier la capacité du sang à s'oxygéner et à retirer le dioxyde de carbone. Les écarts pourraient également être dus, à moindre échelle, à des irrégularités ou défauts de fabrication des microcanaux. On peut penser

notamment à des erreurs d'alignement entre les modules de PDMS, à un mauvais collage ou encore à des résidus ou des poussières dans les microcanaux.

Les résultats des variations de ΔPO_2 , ΔPCO_2 et $\Delta SatO_2$ ont été utilisés pour le calcul du taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone. La valeur de $ctHb(g)$, qui est la concentration totale en hémoglobine dans le sang (en g Hb/ml sang), ainsi que le pH ont été relevées pour chaque mesure et utilisées pour le calcul du taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone. La valeur moyenne de $ctHb(g)$ pour toutes les mesures de cette expérimentation était de 0,098 g Hb/ml de sang et la valeur moyenne du pH était de 7,4.

Contrairement aux pressions partielles, le taux de transfert d'oxygène augmente continuellement en fonction du débit sanguin. Ainsi pour $H = 85 \mu m$, entre 2 ml/min et 10 ml/min, le taux de transfert d'oxygène est quasiment multiplié par 4. Entre les deux hauteurs de capillaires, la différence sur le taux de transfert est moins importante qu'attendue. **Pour un débit sanguin maximal de 15 ml/min, nous obtenons un taux de transfert d'oxygène maximal de 0,406 ml O₂/min pour $H = 105 \mu m$ et de 0,440 ml O₂/min pour $H = 85 \mu m$.** Il semble que les courbes tendent vers la stabilisation après 15 ml/min, ce qui confirme la valeur maximale de débit sanguin pour la performance d'oxygénation sur une seule structure tri-couches. Pour un débit sanguin de 10 ml/min, les valeurs correspondantes sont de 0,335 ml O₂/min pour $H = 105 \mu m$ et de 0,393 ml O₂/min pour $H = 85 \mu m$. On a vu partie IV chapitre 2 que pour respecter les normes cliniques, le taux de transfert d'oxygène minimum est de 0,45 ml O₂/min pour un débit sanguin de 10 ml/min. **On constate ici qu'on est en dessous de cette valeur pour les deux hauteurs H et qu'il est nécessaire d'augmenter la surface d'échange d'une structure tri-couches pour obtenir de meilleurs résultats.** Enfin on note que la valeur de $ctHb(g)$ influe énormément sur le taux de transfert d'oxygène. **Si le sang de cochon prélevé contenait une valeur de $ctHb(g)$ plus importante, le taux de transfert d'oxygène serait maximisé.** Chez le cochon, $ctHb(g)$ est compris entre 0,08 g/ml et 0,15 g/ml [25] et selon les directives de la « Food and Drug Administration » (FDA) [26], $ctHb(g)$ doit être de $0,12 \pm 1$ g/ml pendant les tests d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone.

Le taux de transfert de dioxyde de carbone, quant à lui, a tendance à stagner et ne varie quasiment pas en fonction du débit sanguin, excepté pour la dernière valeur de $H = 85 \mu m$ pour un débit sanguin de 10 ml/min. Il serait intéressant de refaire cette expérimentation sur plus de dispositifs pour déterminer si cette mesure est un point isolé. Nous avons convenu partie IV du chapitre 2, qu'après un débit sanguin supérieur à 5 ml/min, le taux de transfert de dioxyde de carbone n'augmente presque plus en fonction du débit sanguin. La surface d'échange est le paramètre pour lequel le taux de transfert de dioxyde de carbone est le plus dépendant. **Pour un débit sanguin maximal de 10 ml/min, nous obtenons un taux de transfert de dioxyde de carbone maximal de 0,251 ml CO₂/min pour $H = 105 \mu m$ et de 0,386 ml CO₂/min pour $H = 85 \mu m$.** Pour respecter les normes cliniques, le taux de transfert de dioxyde de carbone minimum est de 0,38 ml CO₂/min pour un débit sanguin de 10 ml/min. Nous constatons ici que nous sommes en dessous de cette valeur pour $H = 105 \mu m$ et qu'il est donc nécessaire d'augmenter la surface d'échange.

Nous allons maintenant comparer ces résultats avec nos calculs théoriques, puis avec les travaux de la littérature.

II.2.2 – Comparaison des résultats simulés et expérimentaux

Pendant l'expérience décrite dans la section précédente, nous avons mesuré par analyse sanguine les paramètres du pH, taux d'hématocrite Hct et $ctHb(g)$ dans le sang pour chaque mesure. Le tableau 4.3 nous indique les valeurs moyennes de ces paramètres expérimentaux, en comparaison avec les valeurs théoriques utilisées pour le calcul numérique dans le chapitre 2. La température de conservation du sang est également indiquée.

Nous remarquons d'abord que le pH mesuré vaut 7,4, ce qui correspond à la valeur normale du pH d'un sang de cochon veineux. C'est aussi la valeur théorique utilisée dans les calculs numériques du chapitre 2. Les valeurs moyenne d'hématocrite Hct et de concentration totale en hémoglobine dans le sang $ctHb(g)$ sont quant à elles légèrement inférieures aux valeurs théoriques. Rappelons que le taux d'hématocrite Hct est utilisé pour le calcul de la solubilité et de la diffusivité de l'oxygène dans le sang (eq.2.46 et eq.2.47) et également pour le calcul de la viscosité du sang (eq.2.2) afin d'estimer la chute de pression. Cependant nous estimons que la variation entre la valeur théorique de Hct (33%) et la valeur expérimentale moyenne mesurée (31,9%) est négligeable pour les résultats de solubilité et de diffusivité de l'oxygène dans le sang ainsi que pour la viscosité du sang.

La valeur de la concentration totale en hémoglobine dans le sang $ctHb(g)$ est utilisée pour le calcul du taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone (eq.2.23 et eq.2.34). Nous utilisons la valeur expérimentale moyenne mesurée (0,098 g Hb/ml sang) pour les calculs numériques présentés ci-après.

Enfin la température est le paramètre qui varie le plus entre la valeur théorique et la valeur expérimentale. La courbe de dissociation de l'oxygène décrite partie III.3.5.2 du chapitre 2 (eq.2.43) varie en fonction de la température et du pH, c'est pourquoi on peut s'attendre à une variation entre les valeurs calculées et expérimentales. Pour les prochaines campagnes de mesure, la poche de sang sera conservée dans un incubateur à 37°C pour plus de précision avec le modèle mathématique.

Les calculs numériques sont réalisés conformément au chapitre.2. Les valeurs de tous les paramètres sanguins et expérimentaux utilisés pour ces calculs numériques sont résumées dans le tableau 4.4 (les plages des valeurs des paramètres étudiés dont la hauteur des capillaires et le débit sanguin sont représentés en gras). Pour rappel, les valeurs de la solubilité et de la diffusivité efficace de l'oxygène et du dioxyde de carbone sont indiquées sur le tableau 2.4 du chapitre 2 (nous gardons ici les même valeurs).

Les résultats expérimentaux obtenus dans la section précédente sont comparés aux calculs numériques sur la figure 4.8

Paramètres	Symboles	Unités	Valeurs théoriques utilisées pour les calculs numérique (chap.2)	Valeurs moyennes mesurées expérimentalement
<i>pH du sang</i>	<i>pH</i>		7,4	7,4
Hématocrite	<i>Hct</i>	%	33 [27]	31,9
Concentration totale en hémoglobine dans le sang	<i>ctHb(g)</i>	<i>g Hb/ mL sang</i>	0,10 [28]	0,098
Température	<i>T</i>	°C	37	23

Tableau 4.3. Pour les paramètres de *pH*, d'hématocrite *Hct*, de concentration totale en hémoglobine *ctHb(g)*, et de température, ce tableau représente la comparaison des valeurs moyennes mesurées expérimentalement et des valeurs théoriques utilisées pour le calcul numérique du chapitre 2.

Paramètres	Symboles	Unités	Valeurs
<i>Hauteur des capillaires sanguins</i>	<i>H</i>	μm	85 - 105
<i>Débit sanguin</i>	<i>Q</i>	<i>ml/min</i>	0,5 - 1 - 2 - 5 - 8 - 10 - 15
<i>Longueur des capillaires sanguins</i>	<i>L</i>	<i>cm</i>	3,5
<i>Largeur des capillaires sanguins</i>	<i>W</i>	μm	200
<i>Epaisseur de la membrane</i>	e_m	μm	15
<i>Surface d'échange</i>	S_A	cm^2	10,71
<i>Perméabilité de la membrane à l'oxygène</i>	P_{m,O_2}	<i>Barrer</i>	781
<i>Perméabilité de la membrane au dioxyde de carbone</i>	P_{m,CO_2}	<i>Barrer</i>	4550
<i>Pression partielle en oxygène en entrée</i>	$PO_{2, \text{entrée}}$	<i>mmHg</i>	45
<i>Pression partielle en dioxyde de carbone en entrée</i>	$PCO_{2, \text{entrée}}$	<i>mmHg</i>	55
<i>Saturation de l'hémoglobine en entrée</i>	$SatO_{2, \text{entrée}}$	%	65
<i>Température</i>	<i>T</i>	°C	23
<i>pH du sang</i>	<i>pH</i>		7,4
<i>Concentration totale en hémoglobine dans le sang</i>	<i>ctHb(g)</i>	<i>g Hb/ ml sang</i>	0,098
<i>Constante de solubilité de l'oxygène dans le plasma sanguin</i>	$S_{O_2, \text{plasma}}$	<i>ml O₂/mmHg/ml sang</i>	0,0000314
<i>Le pouvoir oxyphorique théorique de l'hémoglobine</i>		<i>ml O₂/g Hb</i>	1,39

Tableau 4.4. Paramètres sanguins et expérimentaux utilisés pour le calcul numérique (pour une comparaison avec les valeurs expérimentales présenté figure 4.7). Les plages des valeurs des paramètres étudiés sont représentées en gras dans le tableau.

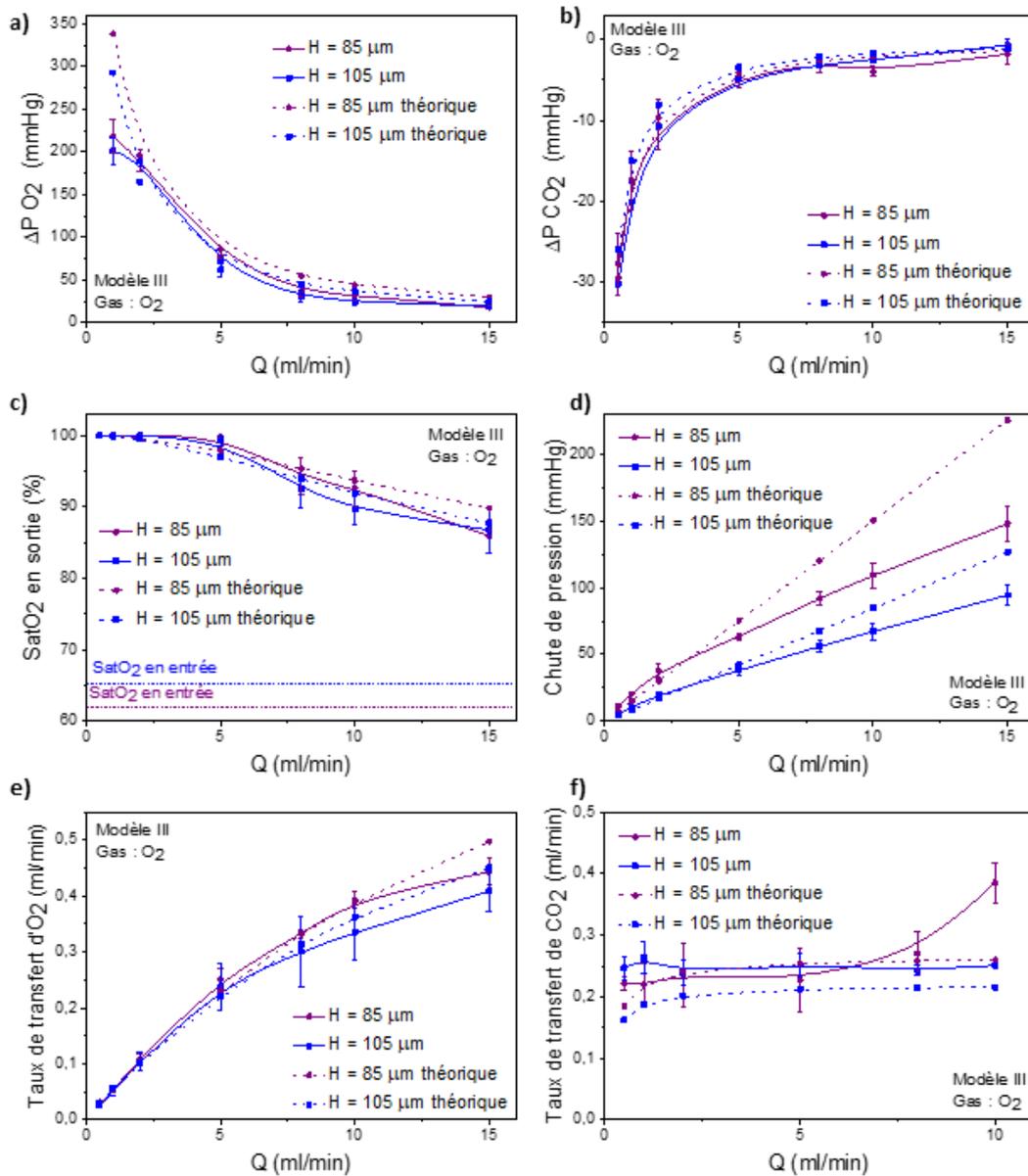


Figure 4.8 Résultats des expérimentations d'oxygénation et de retrait du CO_2 en fonction du débit sanguin Q pour 3 dispositifs avec $H = 85 \mu\text{m}$ et 3 dispositifs avec $H = 105 \mu\text{m}$, avec en (a) ΔPO_2 , en (b) ΔPCO_2 , en (c) SatO_2 en sortie, en (d) chute de pression ΔP , en (e) le taux de transfert d'oxygène, et en (f) le taux de transfert de dioxyde de carbone en fonction du débit sanguin Q . Chaque point correspond à la moyenne des trois analyses, avec les barres d'erreurs associées. La géométrie utilisée est celle du modèle III et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur. Les résultats théoriques pour les deux hauteurs de capillaires sont également représentés en pointillés.

Pour les deux hauteurs de capillaires $H = 85 \mu\text{m}$ et $H = 105 \mu\text{m}$, comme le montre la figure 4.8 (a), les variations de ΔPO_2 obtenues expérimentalement sont d'environ :

- 33 % en dessous des valeurs théoriques pour un débit sanguin Q de 1 ml/min
- 8 % en dessous des valeurs théoriques pour un débit sanguin de 2 et 5 ml/min
- 28 % en dessous des valeurs théoriques pour les hauts débits sanguins de 8, 10 et 15 ml/min.

Cela montre que le modèle mathématique est plus précis dans la gamme de débits de 2 à 5 ml/min.

Comme expliqué partie III.1.3 du chapitre 2, la solubilité et la diffusivité de l'oxygène dans le sang varient en fonction de PO_2 . En calculant une valeur moyenne de solubilité et de diffusivité de l'oxygène sur une gamme de pression partielle, le modèle peut être moins précis, particulièrement si la gamme de pressions partielles est importante. Comme nous avons réalisé les expériences sur une large gamme de débit sanguin, et par conséquent une large gamme de pression partielle en oxygène, **le modèle est moins précis pour les plus petits et les plus grands débits**. Pour les prochains calculs numériques, il conviendrait de calculer une solubilité et une diffusivité efficace de l'oxygène pour des gammes de débits sanguin moins étendues. Par exemple, la solubilité et la diffusivité efficace de l'oxygène pourraient être estimées pour trois gammes de débits sanguin : inférieur à 1 ml/min, entre 2 et 5 ml/min et entre 8 et 15 ml/min.

Concernant la variation de ΔPCO_2 (figure 4.8 (b)), pour une hauteur de 105 μm et un débit sanguin de 1 ml/min, il y a une variation de 20% entre la valeur expérimentale et la valeur simulée. Pour tous les autres débits sanguins et pour les deux hauteurs de capillaires confondues, les variations de PCO_2 obtenues expérimentalement varient d'environ 10 % par rapport aux valeurs simulées. Le modèle mathématique est donc plutôt fiable sur toute la gamme de débit sanguin testée. La solubilité et la diffusivité effective du dioxyde de carbone dans le sang varient donc peu sur cette gamme de pressions partielles.

Les valeurs de $SatO_2$ en sortie sont calculées par rapport au modèle de dissociation de l'oxygène qui décrit la relation de l'oxygène lié chimiquement à PO_2 , décrite partie III.3.5.2 du chapitre 2 (eq.2.43). **On remarque que le sang est saturé pour les petits débits sanguins de 1 et 2 ml/min. Les quelques imprécisions du modèle pour le calcul des pressions partielles en oxygène ont donc un effet mineur.** Entre 5 et 15 ml/min, les valeurs expérimentales diffèrent des valeurs théoriques au maximum de 4%. **Le modèle de dissociation de l'oxygène est donc plutôt fiable pour estimer les valeurs expérimentales.** Comme la courbe de dissociation de l'oxygène varie en fonction de la température et du pH, ce léger écart est compréhensible du fait de l'écart de température entre la valeur théorique et expérimentale. L'expérience peut donc être menée à 23°C sans de grosses différences entre les valeurs théoriques et expérimentales.

Les résultats des ΔPO_2 , ΔPCO_2 et $\Delta SatO_2$ simulées sont injectés dans les équations 2.23 et 2.34 (chapitre 2) pour le calcul numérique du taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone.

Concernant le taux de transfert d'oxygène (figure 4.8 (e)), pour les deux hauteurs de capillaires confondus $H = 85 \mu\text{m}$ et $H = 105 \mu\text{m}$, et un débit sanguin de 15 ml/min, il y a une variation de 12% entre la valeur expérimentale et la valeur simulée. Pour tous les autres débits sanguins et pour les deux hauteurs de capillaires confondues, les valeurs du taux de transfert d'oxygène obtenues expérimentalement varient au maximum de 7% par rapport aux valeurs simulées.

Concernant le taux de transfert de dioxyde de carbone (figure 4.8 (f)), 1/ pour une hauteur de 85 μm : pour un débit sanguin de 1 ml/min, la variation entre les valeurs expérimentales et simulées est de 15%. Pour un débit sanguin compris entre 2 et 10 ml/min, la variation est au maximum de 5% et pour un débit sanguin de 15 ml/min, la variation est de 30%. 2/ pour une hauteur de 105 μm : pour un débit sanguin de 0,5 et 1 ml/min la variation entre les valeurs expérimentales et simulées est de 30%. Pour un débit sanguin compris entre 2 et 15 ml/min, la variation est de 15%.

Bien que ce modèle mathématique pour la simulation d'échange de gaz présente des imprécisions, il donne des résultats qui ne sont pas si loin de la réalité, et qui nous permettent d'avoir une idée de la capacité d'oxygénation et de retrait du CO₂ d'un dispositif. Il nous a permis au préalable d'estimer les paramètres les plus adéquats et il pourra nous servir prochainement pour optimiser encore la surface d'échange du dispositif. Afin d'améliorer le modèle, nous estimerons une solubilité et une diffusivité efficace de l'oxygène sur plusieurs gammes de débits sanguins afin d'avoir une meilleure précision sur la variation de pression partielle en oxygène entre l'entrée et la sortie du dispositif. Le sang sera également conservé en étuve à 37°C pendant toute la préparation de l'expérience.

Concernant la chute de pression simulée (figure 4.8 (d)), celle-ci a été calculée en utilisant les équations 2.7 et 2.8 (chapitre 2). On remarque que pour les deux hauteurs de capillaires, à partir d'un débit sanguin de 5 ml/min, la courbe des valeurs théoriques s'éloigne de plus en plus de la courbe des valeurs expérimentales en fonction du débit sanguin, les valeurs théoriques étant plus élevées que les valeurs expérimentales. Ce phénomène rend **le calcul numérique pour la chute de pression inutilisable du fait de la trop grande différence des valeurs expérimentales et théoriques**. Plusieurs raisons peuvent expliquer cet écart. Premièrement, à moindre échelle, la valeur d'hématocrite (*Hct*) estimée qui est plus élevée que la valeur réelle, peut participer à l'écart entre les résultats simulés et expérimentaux pour la chute de pression. Deuxièmement, cela peut être dû au calcul de la chute de pression qui n'est pas adapté à notre géométrie car les capillaires et les microcanaux d'entrée dans l'arborescence sont courbés. Troisièmement, une autre hypothèse est que le PDMS peut se déformer sous forte pression à haut débit sanguin, conduisant à un élargissement de la hauteur *H* et de la largeur *W* des microcanaux et donc à un abaissement de la chute de pression. Il serait intéressant de réaliser des simulations adaptées à notre géométrie avec la méthode des éléments finis via un logiciel tel que COMSOL. Cela nous permettrait de savoir quel est le paramètre pertinent, la géométrie courbée ou la nature viscoélastique du matériau PDMS.

II.2.3 – Comparaison avec d'autres études

Le tableau 4.5 compare notre dispositif avec les oxygénateurs microfluidiques les plus récents à ce jour. Au moins un des oxygénateurs de chaque grand groupe de recherche qui étudie les poumons artificiels est présenté dans le tableau. Il est choisi en fonction de sa performance : c'est-à-dire le meilleur taux de transfert d'oxygène et le plus haut débit sanguin pour une chute de pression inférieure à 100 mmHg (excepté pour *Gimbel et coll.* [2] qui ne précise pas la chute de pression dans le dispositif). Le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur et les dispositifs sont composés d'une seule ou de plusieurs structures tri-couches connectées en parallèle. Le taux de transfert de dioxyde de carbone n'est pas reporté dans ce tableau pour plus de clarté et pour une meilleure comparaison entre les études en ne se basant que sur un seul paramètre à comparer. De plus toutes les études ne reportent pas le taux de transfert de dioxyde de carbone en priorisant le taux de transfert d'oxygène.

	H_c (μm)	e_m (μm)	Chute de pression (mmHg)	N_b structures tri-couches	V_s (ml)	Taux de transfert d’oxygène (ml O_2 /min)	Surface d’échange totale (m^2)	Taux de transfert d’oxygène normalisé à la surface d’échange (ml O_2 /min/ m^2)	Q (ml/min)
Rieper et coll. 2015 [1]	100	100	80	10	-	3,06	0,036	25	50
Gimbel et coll. 2016 [2]	-	30	-	14	0,231	1,2	0,0046	261	25
Thompson et coll. 2018 [3]	30	30	66	1	0,47	0,400	0,0031	129	17
Dabaghi et coll. 2018 [4]	160	25/ 110	48	1	1	0,877	0,0100	87,7	20
Dabaghi et coll. 2019 [5]	160	30/ 120	100	8	12,5	4,2	0,0800	52,5	100
<u>Cette étude:</u> dispositif simple	105	15	90	1	0,27	0,406	0,00107	379	15
<u>Perspective</u> <u>de cette</u> <u>étude:</u> dispositif empilé (10)	105	15	90	10	2,7	4,06	0,0107	379	150

Tableau 4.5. Comparaison entre notre dispositif et les oxygénateurs microfluidiques les plus récents et les plus performants à ce jour. Les paramètres reportés sont la hauteur des capillaires sanguin (H_c), l’épaisseur de la membrane e_m , la chute de pression dans le dispositif, le nombre de structures tri-couches empilées (N_b structures tri-couches), le volume sanguin d’amorçage (V_s), le taux de transfert d’oxygène, la surface d’échange, le débit sanguin (Q) ainsi que le taux de transfert d’oxygène normalisé à la surface d’échange afin de fournir une meilleure comparaison entre tous les dispositifs. Une dernière ligne en bleu expose le potentiel résultat si l’on empile 10 structures tri-couches en parallèle.

Le but de notre étude est d’optimiser la performance d’oxygénation et de retrait du CO_2 sur une structure tri-couches afin de réduire au maximum le nombre d’empilements. Comparé aux oxygénateurs composés d’une seule structure tri-couches [3,4], le taux de transfert d’oxygène de notre dispositif (colonne 5 du tableau) est quasiment identique à celui de *Thompson et coll.* [3].

Dabaghi et coll. 2018 [4] propose, quant à lui, un dispositif dont le taux de transfert d’oxygène est plus de deux fois plus élevé avec une valeur de 0,877 ml O₂/min. C’est le plus haut taux de transfert d’oxygène réalisé sur une seule structure tri-couches. Cette valeur est possible grâce à une très grande surface d’échange de 0,01 m², 10 fois plus grande que la nôtre. **L’augmentation de la surface d’échange sur une seule structure tri-couches est donc très importante pour une meilleure performance d’oxygénation même si cela induit une augmentation du volume sanguin d’amorçage.** Dans les travaux futurs, proposer un échange de gaz bilatéral au sein du dispositif composé de plusieurs structures tri-couches permettrait d’augmenter la surface d’échange d’un facteur 2.

Avec un taux de transfert d’oxygène de 4,2 ml O₂/min et un débit sanguin de 100 ml/min, *Dabaghi et coll.* 2019 [5] obtient à ce jour le plus haut taux de transfert d’oxygène ainsi que le plus haut débit sanguin pour un oxygénateur microfluidique, notamment grâce à une très grande surface d’échange de 0,08 m². Le dispositif est composé de 8 structures connectées en parallèle (comme illustré partie III.2.4 du chapitre 1). Chaque structure de cet oxygénateur est composée uniquement des capillaires sanguins, sans microcanaux d’oxygénation. Une fine épaisseur de PDMS de chaque côté des capillaires permet une oxygénation du sang en utilisant l’air ambiant sans avoir besoin de flux d’air ou d’oxygène. Il est possible d’utiliser de l’oxygène pur si les structures sont contenues dans un sac rempli d’oxygène. L’inconvénient de ce dispositif est qu’il prend beaucoup de place, car il faut laisser un espace entre chaque structure pour permettre l’oxygénation. Les structures sont connectées en parallèle grâce à un système fluide centralisé réalisé dans un bloc de PDMS. Avec cette technique il semble difficile de connecter plus de 8 structures en parallèle.

Comme le montre le tableau, notre oxygénateur présente de loin le meilleur taux de transfert d’oxygène normalisé à la surface d’échange avec une valeur de 379 ml O₂/min/m². Si l’on augmente fortement la surface d’échange, notre dispositif est donc le plus prometteur en termes de capacité d’oxygénation tout en proposant la structure la plus compacte possible. Toutefois, il convient de noter que la chute de pression reste assez élevée, même si elle est en dessous de 100 mmHg. *Gimbel et coll.* [2] présente aussi un très haut taux de transfert d’oxygène normalisé à la surface d’échange avec une valeur de 261 ml O₂/min/m² (notamment grâce à une fine épaisseur de membrane et à une petite dimension des capillaires) ainsi qu’un taux de transfert d’oxygène le plus élevé après *Dabaghi et coll.* 2019 avec une valeur de 1,2 ml O₂/min. Néanmoins à cause d’une surface d’échange très petite sur chaque structure tri-couches, l’oxygénateur comporte un empilement de 14 structures en parallèle. A noter qu’il faudrait seulement 3 de nos structures tri-couches empilées en parallèle pour obtenir le même taux de transfert d’oxygène.

La dernière ligne du tableau correspond à une estimation des valeurs de la chute de pression, du volume d’amorçage, de taux de transfert d’oxygène et du débit sanguin pour un dispositif composé de 10 structures tri-couches de la géométrie modèle III empilés en parallèle. Le taux de transfert d’oxygène serait de 4,06 ml O₂/min pour un débit sanguin de 150 ml/min.

Ces valeurs ne sont pas suffisantes pour une application clinique. **En mettant à l'échelle notre dispositif pour un débit sanguin d'1 l/min, il faudrait empiler 67 structures tri-couches en parallèle, et cela correspondrait à un taux de transfert d'oxygène de 27 ml O₂/min.** Cette valeur est bien inférieure au taux de transfert d'oxygène minimal requis de 45 ml O₂/min/l. Il convient donc d'augmenter la surface d'échange d'une seule structure tri-couches afin d'augmenter le taux de transfert d'oxygène globale. **D'après les simulations numériques présentées partie IV du chapitre 2, une surface d'échange de 0,003 m², soit 3 fois plus grande que notre surface actuelle, permettrait d'obtenir un taux de transfert d'oxygène de 0,67 ml O₂/min sur une seule structure tri-couches pour un débit de 15 ml/min et une hauteur de capillaire de 105 µm. Rapporté à un débit sanguin de 1 l/min, le taux de transfert d'oxygène globale serait de 44,9 ml O₂/min, ce qui est très proche des normes cliniques.**

Pour *Dabaghi et coll. 2018* [4], 50 structures connectées en parallèle sont nécessaires pour obtenir un débit sanguin d'1 l/min correspondant à un taux de transfert d'oxygène de 43 ml O₂/min, ce qui se rapproche des valeurs attendues pour un nombre plus faible de structures à connecter. Le problème majeur de ce dispositif est la connexion entre les structures qui semble complexe pour un résultat très volumineux. Pour tous les autres oxygénateurs microfluidiques, le nombre de structures à empiler est supérieur ou égale à 67.

Afin de réduire au maximum le nombre de structure tri-couches à empiler et augmenter le taux de transfert d'oxygène pour se rapprocher des normes cliniques, il est crucial d'agrandir la surface d'échange sur une seule structure tri-couches, en dépit du volume sanguin d'amorçage. La chute de pression devra être ré-évaluée et pourra être réduite en augmentant la largeur et/ou la hauteur des capillaires sanguins, ou en agrandissant la hauteur des microcanaux pour l'arborescence d'entrée du module de sang.

II.3 – Un dispositif à 3 structures tri-couches empilées

Pour prouver la fonctionnalité de notre architecture avec un empilage vertical de structures tri-couches, nous avons réalisé une première expérience sur un dispositif composé de trois structures tri-couches empilées. Une photo du dispositif ainsi qu'une représentation d'une vue en coupe est représentée figure 4.9. L'échange de gaz est unilatéral, c'est-à-dire uniquement à travers la fine membrane de PDMS. Le but de cette expérience est de comparer la chute de pression et la capacité d'oxygénation d'un dispositif empilé et d'un dispositif simple composé d'une seule structure tri-couches. Pour les deux dispositifs, la hauteur des capillaires est $H = 105 \mu\text{m}$, la géométrie est celle du modèle III et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur. Les résultats de la même expérimentation (sans les résultats de chute de pression) pour une hauteur de capillaires $H = 85 \mu\text{m}$ sont présentés en annexe 9.

Je précise que, pendant cette expérience, deux problèmes majeurs sont survenus. Premièrement, après une erreur de manipulation pendant le prélèvement du sang de cochon, $SatO_2$ en entrée était beaucoup trop basse avec une valeur de 12% au lieu des 65% prévus. Etant donné la faible $SatO_2$ en entrée, le sang n'était pas saturé à 100% en sortie. C'est pourquoi les résultats d'oxygénation, présentés figure 4.10 (a), représente la variation de la saturation en oxygène entre l'entrée et la sortie du dispositif ($\Delta SatO_2$) plutôt que la valeur absolue de la saturation en oxygène en sortie. Deuxièmement, des fuites de sang dans le dispositif empilé sont apparues au niveau du réservoir

circulaire du sang et des sorties du gaz d'oxygénation. Cette fuite est due au perçage des trous entre les structures tri-couches, entre les canaux qui permettent la circulation du gaz d'oxygénation et du sang dans le dispositif. En effet, nous avons remarqué que les sorties du gaz d'oxygénation sont trop proches du réservoir circulaire de sang, ce qui a généré des fuites au cours de l'expérience. Quelques modifications de la géométrie des microcanaux d'oxygénation sont en cours de réalisation, pour éviter à l'avenir ces fuites dans les dispositifs empilés. Les fuites survenues pendant l'expérience ont pu fausser les résultats, c'est pourquoi cette expérimentation devra être refaite avec des dispositifs empilés complètement étanches. Malgré les deux problèmes majeurs décrits ci-dessus, nous présentons dans la figure 4.10, les résultats de $\Delta SatO_2$ entre l'entrée et la sortie du dispositif ainsi que la chute de pression ΔP afin d'avoir une idée des performances d'un dispositif empilé, par comparaison avec un dispositif simple.

Comme illustrée figure 4.10 (a), on peut observer que la variation de $\Delta SatO_2$ du dispositif empilé est supérieure (environ d'un facteur 2) à celle du dispositif simple pour des débits sanguins allant de 2 à 15 ml/min. Cela s'explique car le débit sanguin est réduit dans chaque structure tri-couches du dispositif empilé du fait de la distribution du flux sanguin entre les trois structures tri-couches empilées en parallèle. Le débit sanguin réduit, augmente le temps de résidence du sang dans les capillaires, ce qui laisse plus de temps pour l'échange de gaz. Cela permet également de réduire la coagulation qui se développerait plus rapidement à haut débit sanguin.

La figure 4.10 (b) montre que la chute pression du dispositif empilé est légèrement inférieure à celle du dispositif simple. Le fait qu'elle n'augmente pas pour le dispositif empilé est dû à la distribution parallèle de la résistance fluide entre chaque structure tri-couches. Considérant qu'un des défis actuels pour les oxygénateurs microfluidiques est d'augmenter le débit sanguin total tout en maintenant une chute de pression raisonnable, nous pouvons considérer que l'empilement de structures tri-couches en parallèle pourrait fournir la solution pour travailler à haut débit sanguin au sein d'un oxygénateur microfluidique. D'autre part, en plus d'agrandir le dispositif verticalement par empilement, les dimensions horizontales d'une structure tri-couches peuvent être augmentées, en passant par exemple d'une taille 4 pouces à une taille 5, 6 ou 8 pouces, qui sont des tailles adaptées aux technologies standards de lithographie pour la fabrication des moules de sang et de gaz.

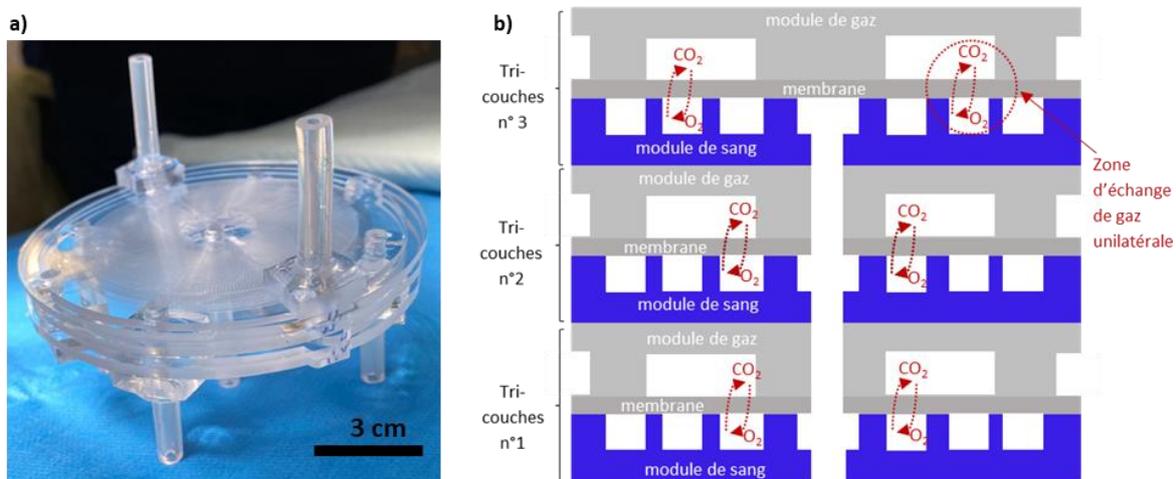


Figure 4.9. A gauche (a), une photo du dispositif empilé composé de trois structures tri-couches en parallèle, et à droite (b), une représentation d'une vue en coupe du dispositif. L'échange de gaz est unilatéral, c'est-à-dire uniquement à travers la fine membrane de PDMS.

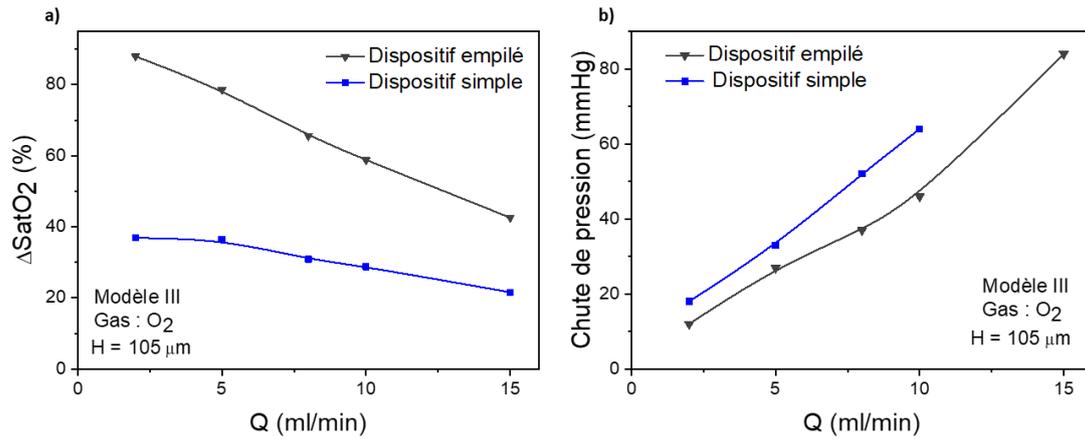


Figure 4.10. Résultats des expérimentations d'oxygénation entre un dispositif simple composé d'une seule structure tri-couches et un dispositif empilé composé de trois structures tri-couches. Pour les deux dispositifs, la hauteur des capillaires est de 105 μm, la géométrie est celle du modèle III et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur. Il est présenté (a) la variation de la saturation en oxygène entre l'entrée et la sortie du dispositif (ΔSatO_2) ainsi que (b) la chute de pression ΔP en fonction du débit sanguin.

III – Endothélialisation des capillaires sanguins

Des dispositifs en PDMS composés uniquement du module de sang (sans membrane ni module de gaz) ont été envoyés à l'équipe de l'INSERM U1197 (interactions cellules souches-niches : physiologie, tumeurs et réparation tissulaire) pour tester l'endothélialisation du système. A ce stade de test nous n'avons pas besoin d'ajouter de membrane ni de module de gaz car nous ne réalisons pas encore d'expérimentation sur la capacité d'oxygénation et de retrait du CO₂. Comme cela a déjà été évoqué au chapitre 1, si nous ajoutons un revêtement de cellules endothéliales sur les parois des capillaires sanguins, cela pourrait considérablement réduire la coagulation du sang.

Pour fabriquer le dispositif à endothélialiser, un module de sang a tout d'abord été réalisé comme expliqué partie 1.2 du chapitre 3. La géométrie est celle du modèle III pour une hauteur de capillaire $H = 85 \mu\text{m}$. Une fine épaisseur de PDMS vierge réticulée est ensuite collée sur le module de sang, pour fermer les capillaires sanguins, en utilisant le collage humide PDMS/hexane (partie 1.2 du chapitre 3). La fine épaisseur de PDMS vierge est élaborée en coulant une petite quantité de PDMS liquide dans une boîte de pétri. L'ensemble est dégazé à l'aide d'une cloche à vide pendant 2h, puis mis en étuve à 60°C pendant 4h pour laisser le PDMS réticuler. Plus l'épaisseur de PDMS est fine, plus il sera facile d'observer au microscope les cellules endothéliales dans les capillaires sanguins. Elle est généralement de l'ordre de 2 mm d'épaisseur. Les connectiques fluidiques sont ensuite intégrées au niveau des entrées et sorties des capillaires sanguins.

Le protocole pour la culture cellulaire dans les dispositifs est expliqué ci-dessous d'après le protocole de l'équipe de l'INSERM U1197. Des échantillons humains ont été utilisés conformément à la déclaration d'Helsinki. Des échantillons de sang de cordon ombilical (CB) prélevés sur des nouveau-nés sains à terme ont été obtenus à l'hôpital CB Bank de St Louis (Paris, France), autorisé par l'autorité de régulation française (no PPC51). Cette activité a été déclarée et autorisée par le ministère français de la Recherche sous le numéro AC- 2008-376, et par l'organisation française pour la normalisation sous le numéro 201/51848.1.

Les cellules mononucléaires (MNC), obtenues par centrifugation à gradient de densité, ont étéensemencées dans des puits revêtus de collagène de type I (*CORNING*), tel que décrit dans l'article de Ponio *et coll.* 2014 [29]. Les cellules formant des colonies endothéliales (ECFCs, de l'acronyme anglais Endothelial Colony Forming Cells) sont apparues après 7 à 20 jours de culture. À partir du 1^{er} passage (P1), les cellules ont étéensemencées à 5000 cellules/cm² et cultivées en milieu EGM-2MV, *Endothelial SingleQuots™ Kit (Lonza)*. Les ECFCs à P5 ont été utilisées pour endothélialiser le dispositif. Les expériences sous flux ont été réalisées à l'aide d'un contrôleur de pression microfluidique (*MFCS™, Fluigent*). La figure 4.11 montre une photo de l'ensemble du système *MFCS™* connecté à un dispositif microfluidique (uniquement la partie module de sang) à l'intérieur d'un incubateur. Avant d'ensemencer les cellules, le dispositif a été rempli pendant 1h à 37 °C avec 1 mg/ml d'albumine humaine (*Sigma*) et 1 U/ml d'héparine (*Panpharma*). Ensuite, après une étape de lavage avec du tampon phosphate salin (solution 1X), communément appelé PBS (l'acronyme anglais de Phosphate Buffered Saline), 4x10⁶ ECFCs ont été préparées dans 200 μL de PBS (solution 1X) et injectées dans le dispositif. Une fois les cellules collées, un débit de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ a été appliqué pendant toute la période expérimentale. Les dispositifs ont été incubés à 37°C et à 5 % de CO₂.

Les ECFCs sont des cellules endothéliales rares et très proliférantes que l'on trouve dans la moelle osseuse et la circulation sanguine. Les ECFCs sont fortement angiogéniques et peuvent migrer vers les sites de lésions des vaisseaux sanguins et contribuer à la réparation de la structure vasculaire endommagée. Pour introduire et ensemercer les cellules endothéliales dans le dispositif, les cellules ont été maintenues sous le débit de 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ pendant 60 minutes, puis le débit a été augmenté à 10 $\mu\text{l}/\text{min}$. Afin d'évaluer le succès et l'entretien de l'endothélialisation, des photos ont été prises à différents moments, c'est-à-dire les jours 0, 1, 2, 4, 6, 12 et 13 (voir figure 4.12). Dans ces conditions fluidiques, le dispositif a pu être endothélialisé avec succès pendant toute la durée de l'expérience. Les cellules ont commencé à recouvrir les parois des capillaires sanguins à partir du 1^{er} jour et à atteindre la confluence le même jour en raison du nombre élevé de cellules lors de l'ensemencement. Aucun détachement des cellules endothéliales n'a été observé dans les angles ni le long des microcanaux (figure 4.12). Afin de caractériser les cellules endothéliales, l'immunomarquage a été effectué directement sur les cellules à l'intérieur du dispositif et sous flux avec le marqueur endothélial CD31 et le marqueur DAPI pour distinguer les noyaux des cellules. On peut observer une expression unifiée des marqueurs CD31 et DAPI indiquant le bon entretien des marqueurs endothéliaux pendant deux semaines sous flux. L'avantage d'utiliser MFCS™ est de générer un débit à pression constante qui permet des expériences fiables et reproductibles. Après 13 jours sous flux, les cellules endothéliales ont été trypsinées puis analysées par cytométrie de flux. L'expression des marqueurs essentiels endothéliaux tels que CD34, CD31, CD144 et VEGFR2 (KDR) évaluée avant et après le flux a démontré des valeurs égales. Cela prouve que les procédures d'endothélialisation et les conditions fluidiques n'ont pas d'impact sur les marqueurs endothéliaux.

Ce test pour l'endothélialisation nous confirme que la géométrie du modèle III est adaptée pour l'endothélialisation, et que le protocole pour la culture cellulaire dans le dispositif est approprié. Les cellules survivent pour le moment jusqu'à 13 jours sans détachement et sans mort prématurée.

Une des prochaines expérimentations serait de tester la capacité d'oxygénation et de retrait du CO₂ d'un dispositif tri-couche avec un module de sang endothélialisé. En effet il est possible que la couche de cellules endothéliales puisse ajouter une résistance à l'échange de gaz et donc réduire la performance d'oxygénation et de retrait du CO₂. Gimbel *et coll.* [2] a montré que la capacité d'oxygénation et de retrait du CO₂ n'est pas modifiée dans un petit dispositif microfluidique endothélialisé avec des cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (HUVECs) (voir partie III.2.3. du chapitre 1). Cette conclusion est encourageante cependant d'autres expérimentations doivent être faites sur des dispositifs de taille 4 pouces avec des débits sanguins plus élevés. D'autre part, dans l'étude de Gimbel *et coll.* [2], aucun contrôle de compatibilité n'a été effectué pour observer des interactions indésirables telles que des effets immunogènes entre le sang bovin et les HUVECs, un problème très important qui sera évalué dans notre prochaine expérimentation.



Figure 4.11. Une image du contrôleur de pression Fluigent (MFCS™) connecté à un dispositif microfluidique (uniquement partie module de sang) installé à l'intérieur d'un incubateur pendant le test d'endothélialisation des capillaires sanguins.

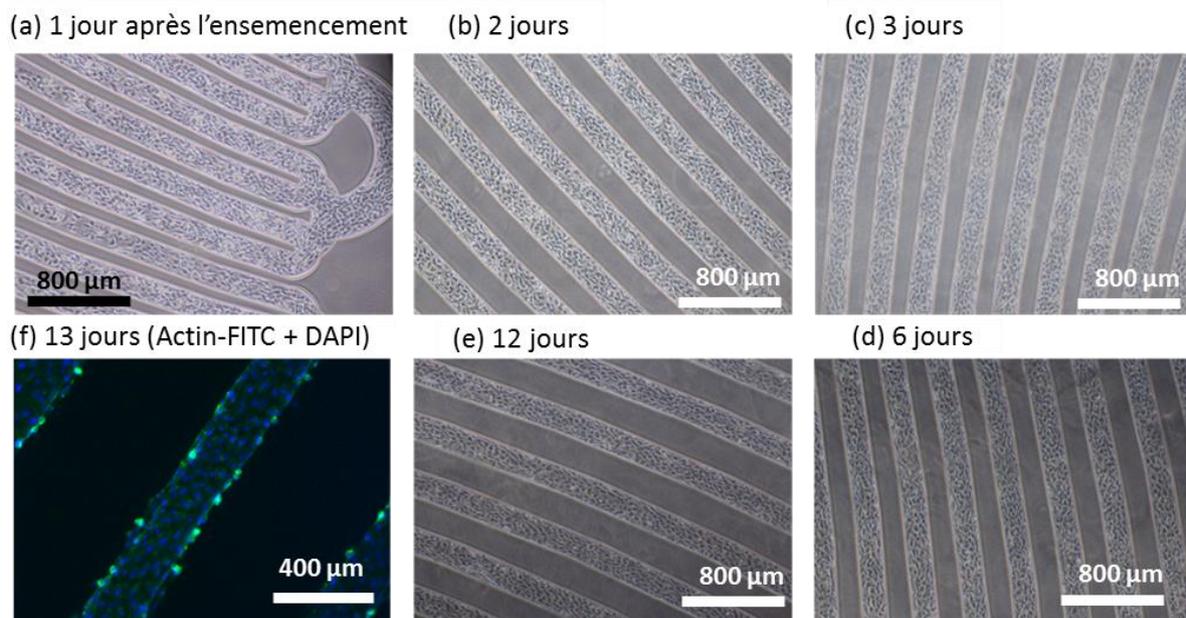


Figure 4.12. Images optiques enregistrées pendant l'endothélialisation dans différentes parties du dispositif à des moments différents notamment après (a) un jour, (b) deux jours, (c) quatre jours, (d) six jours et (e) douze jours, et une image confocale enregistrée après la fixation des cellules (f).

IV – Conclusion et perspectives

Les premières expériences (partie I de ce chapitre) nous ont permis de détecter les paramètres les plus influents sur la capacité d'oxygénation et de retrait du CO₂ du sang circulant dans le réseau de capillaires. Ces paramètres sont le débit sanguin, la hauteur des microcanaux (capillaires sanguin et microcanaux d'oxygénation), la surface d'échange et le pourcentage d'oxygène dans le gaz d'oxygénation.

Nous avons également identifié les paramètres qui jouent sur la chute de pression, devant être inférieure à 100 mmHg pour limiter la coagulation du sang. Puisque la chute de pression est déterminée par la résistance fluide du réseau des capillaires sanguins, c'est la géométrie de ce réseau qui doit être optimisée. J'ai étudié principalement le rôle de la hauteur des capillaires sur la chute de pression, la largeur et la longueur des capillaires étant fixées. Mes mesures montrent qu'une hauteur minimum $H = 85 \mu\text{m}$ est nécessaire pour travailler à des débits sanguins allant jusqu'à 10 ml/min. Pour des débits sanguins supérieurs à 10 ml/min, la hauteur des capillaires devra être augmentée, au risque toutefois de perdre en performance d'échanges gazeux. Mes mesures montrent aussi qu'une hauteur trop petite tel que $H = 35 \mu\text{m}$ conduit à une chute de pression trop élevée, ce qui entraîne une mauvaise circulation du gaz d'oxygénation et par conséquent une chute des performances d'échange gazeux.

C'est finalement la géométrie modèle III avec une grande surface d'échange qui a permis de maximiser les échanges gazeux. Enfin, j'ai observé que l'utilisation de l'oxygène pur comme gaz d'oxygénation apporte de bien meilleurs résultats que l'utilisation d'un mélange air (50%)/oxygène (50%). Nous avons donc retenu l'oxygène pur comme gaz d'oxygénation pour la suite des expériences.

En utilisant un nouveau protocole pour l'obtention d'un sang de cochon veineux avec une $SatO_2$ de 65% en entrée, les dernières expérimentations nous ont permis de tester la capacité maximale d'échange de gaz du dispositif pour deux hauteurs de capillaires (85 et 105 μm). Finalement, c'est la hauteur $H = 105 \mu\text{m}$ qui est la plus intéressante pour notre application. En effet, la chute de pression est inférieure à 100 mmHg pour tous les débits sanguins jusqu'à 15 ml/min. D'autre part, le taux de transfert d'oxygène n'est pas loin de celui d'une hauteur de 85 μm pour un débit sanguin de 15 ml/min (0,44 ml O₂/min pour une hauteur de 85 μm et 0,406 ml O₂/min pour une hauteur de 105 μm).

Les résultats des calculs numériques présentés au chapitre 2 sont en bonne adéquation avec les résultats expérimentaux pour la capacité d'oxygénation et de retrait du CO₂. Pour encore plus de précision sur la pression partielle en oxygène, il convient de calculer une solubilité et une diffusivité efficace de l'oxygène dans le sang pour des plus petites gammes de débits sanguins (et par conséquent des plus petites gammes de pressions partielles). De plus, pour une meilleure précision sur la saturation en oxygène en sortie, il convient de conserver le sang à 37°C pendant les expérimentations. Le modèle simplifié de Potkay pour l'échange de gaz semble adéquat pour notre oxygénateur et pourra donc être utilisé pour les travaux futurs d'optimisation de la structure tri-couches. Concernant la chute de pression dans les capillaires sanguins, les résultats théoriques sont bien plus élevés que les résultats expérimentaux, à partir de 5 ml/min ; et l'écart se creuse à haut débit sanguin. Ceci signifie que la formule, qui permet de calculer la résistance de capillaires rectilignes à section carrée, n'est pas suffisamment précise pour estimer la résistance de nos capillaires courbés. Cette formule semble non-adaptée aussi bien pour les capillaires courbés que pour les microcanaux d'injection de l'arborescence d'entrée eux-aussi courbés. A l'aide d'un logiciel numérique aux éléments finis tel que COMSOL, il

devrait être possible de calculer la valeur des résistances correspondantes à la géométrie exacte du dispositif. Si malgré ce calcul, des écarts de valeurs sont encore observés entre théorie et expérience, on pourrait alors conclure sur le fait que le PDMS se déforme ce qui expliquerait l'abaissement de la chute de pression par rapport aux valeurs attendues, du fait de l'élargissement du matériau sous haute pression à haut débit sanguin.

La comparaison des résultats d'une seule structure tri-couches avec les résultats des autres oxygénateurs microfluidiques, existants aujourd'hui, a mis en évidence les qualités et les manquements de notre dispositif.

En résumé, les principaux avantages qui caractérisent notre dispositif sont :

- (1) Un taux de transfert d'oxygène et un débit sanguin à l'état de l'art pour une seule structure tri-couches (respectivement 0,406 ml d'O₂/min et 15 ml/min), ainsi qu'un très faible volume sanguin d'amorçage de 0,27 ml.
- (2) Le plus élevé des taux de transfert d'oxygène normalisé à la surface d'échange (379 ml d'O₂/min) comparé aux autres oxygénateurs microfluidiques, ce qui fait de notre dispositif le plus prometteur en termes de capacité d'oxygénation.
- (3) Un nombre réduit de structures tri-couches à empiler (67) pour atteindre un débit sanguin d'1 l/min. Cette amélioration permet de réduire la complexité, le temps et les coûts de fabrication des dispositifs.

Certaines limitations ont également été observées :

- (1) Une surface d'échange trop petite sur une seule structure tri-couches (0,00107 m²), ce qui limite le taux de transfert d'oxygène (0,406 ml d'O₂/min pour un débit de 15 ml/min). En mettant à l'échelle notre dispositif pour un débit sanguin d'1 l/min, le taux de transfert serait de 27 ml O₂/min alors que la norme minimale est de 45 ml O₂/min/l. Une surface d'échange au moins 3 fois plus grande sur une seule structure tri-couches (pour $H = 105 \mu\text{m}$) permettrait de respecter les normes d'oxygénation clinique concernant le taux minimal de transfert d'oxygène.
- (2) Une chute de pression assez élevée $\Delta P = 90 \text{ mmHg}$.

Concernant les dispositifs empilés, les premières mesures ont montré que la variation de la saturation en oxygène augmentait environ d'un facteur 2 pour un dispositif empilé (3 structures empilées) par rapport à un dispositif simple. La chute de pression est quasiment équivalente pour les deux types de dispositifs (et même un peu plus faible pour le dispositif empilé) ce qui confirme que la chute de pression n'augmentera pas en empilant plusieurs dispositifs en parallèle. Les résultats sont positifs mais d'autres expériences devront être réalisées, car nous avons eu des fuites de sang au niveau du réservoir circulaire du sang et des sorties du gaz d'oxygénation ce qui peut fausser les résultats. La géométrie des microcanaux d'oxygénation doit être optimisée pour les dispositifs empilés afin d'éviter toutes fuites dans le système. Lorsqu'il n'y aura plus de fuites dans les dispositifs empilés, une augmentation du nombre d'empilements est également à prévoir (jusqu'à 10) pour montrer qu'il n'y a pas de limitation au nombre d'empilement de structures tri-couches.

Afin de réduire la taille du dispositif final et, en même temps, d'améliorer l'échange de gaz, nous pourrions prochainement optimiser le protocole de fabrication en déposant le PDMS par enduction centrifuge sur les moules de sang et de gaz, et ainsi réduire considérablement la hauteur des modules

de sang et de gaz. Cela permettrait premièrement de réduire la taille des structures tri-couches et deuxièmement de réaliser un échange de gaz bilatéral et donc d'augmenter la surface d'échange d'un facteur 2, sans augmenter la chute de pression. Une épaisseur de PDMS comprise entre 25 et 50 μm au-dessus des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation permettrait un échange de gaz bilatérale. La figure 4.13. illustre une vue en coupe d'un dispositif composé de trois structures tri-couches empilées en parallèle permettant un échange de gaz bilatéral.

Pour augmenter encore la surface d'échange actuelle jusqu'à un facteur 3, il sera nécessaire d'augmenter aussi en surface la géométrie des modules de sang et de gaz.

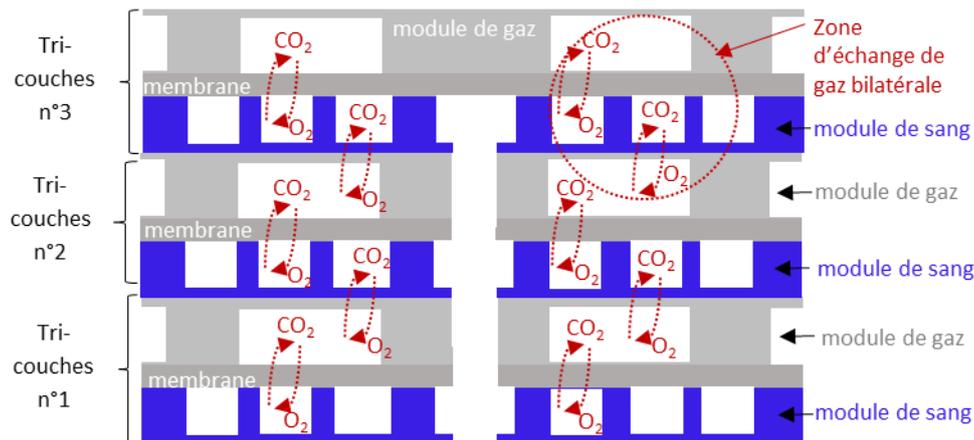


Figure 4.13. Représentation d'une vue en coupe d'un dispositif composé de trois structures tri-couches empilées, si l'on dépose le PDMS par enduction centrifuge sur les moules de sang et de gaz, afin de laisser une faible épaisseur de PDMS (entre 25 et 50 μm) au-dessus des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation. Cela permettrait un échange de gaz bilatéral et donc d'augmenter la surface d'échange d'un facteur 2, sans augmenter la chute de pression.

La culture cellulaire, réalisée dans un dispositif 4 pouces par l'équipe de Georges Uzan (INSERM U1197), confirme que le design des capillaires sanguins est adapté pour l'endothélialisation. La prochaine expérience consistera à tester la capacité d'échange gazeux d'un dispositif endothélialisé. En effet, le revêtement cellulaire peut réduire la capacité d'oxygénation et le retrait de CO_2 car elle apporte une résistance supplémentaire à l'échange de gaz. Gimbel *et coll.* [2] montre que la capacité d'oxygénation et de retrait du CO_2 n'est pas modifiée dans un petit dispositif microfluidique endothélialisé (voir partie III.2.3 du chapitre 1). Cette conclusion est encourageante cependant d'autres expérimentations doivent être faites sur des dispositifs à plus grande échelle (tels que des dispositifs de taille 4 pouces) avec des débits sanguins plus élevés.

Une autre expérience devra être faite pour vérifier la qualité du revêtement de cellules endothéliales sur l'hémocompatibilité du système. En première analyse, nous pouvons estimer la qualité du revêtement grâce à une circulation de sang veineux à un débit sanguin fixe pendant une durée minimum de 3h ; puis en analysant à intervalle de temps (par exemple toutes les 30 min), la pression partielle en oxygène et en dioxyde de carbone, la saturation en oxygène ainsi que la chute de pression. En effet, lorsque le sang commence à coaguler au niveau des parois des capillaires sanguins alors les pressions partielles et la saturation en oxygène diminuent. La résistance hydraulique et la chute de pression augmentent car les dimensions des canaux diminuent.

Références bibliographiques du Chapitre 4

- [1] Rieper, T., Müller, C., & Reinecke, H. (2015). *Novel scalable and monolithically integrated extracorporeal gas exchange device*. *Biomedical Microdevices*, 17(5).
- [2] Gimbel, A. A., Flores, E., Koo, A., García-Cardena, G., & Borenstein, J. T. (2016). *Development of a biomimetic microfluidic oxygen transfer device*. *Lab on a Chip*, 16(17), 3227–3234.
- [3] Thompson, A. J., Ma, L. J., Plegue, T. J., & Potkay, J. A. (2018). *Design Analysis and Optimization of a Single Layer PDMS Microfluidic Artificial Lung*. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 1–1.
- [4] Dabaghi, M., Saraei, N., Fusch, G., Rochow, N., Brash, J. L., Fusch, C., & Selvaganapathy, P. R. (2018). *An Ultra-thin Highly Flexible Microfluidic Device for Blood Oxygenation*. *Lab on a Chip*.
- [5] Dabaghi, M., Saraei, N., Fusch, G., Rochow, N., Brash, J. L., Fusch, C., & Ravi Selvaganapathy, P. (2019). *An ultra-thin, all PDMS-based microfluidic lung assist device with high oxygenation capacity*. *Biomicrofluidics*, 13(3), 034116.
- [6] Lehle, K., Philipp, A., Hiller, K.-A., Zeman, F., Buchwald, D., Schmid, C., ... Lubnow, M. (2014). *Efficiency of gas transfer in venovenous extracorporeal membrane oxygenation: analysis of 317 cases with four different ECMO systems*. *Intensive Care Medicine*, 40(12), 1870–1877.
- [7] Karagiannidis, C., Hesselmann, F., & Fan, E. (2019). *Physiological and Technical Considerations of Extracorporeal CO₂ Removal*. *Critical Care*, 23(1).
- [8] Gerard J. Myers (2014). *Understanding Off-Label Use and Reference Blood Flows in Modern Membrane Oxygenators*. *The Journal of ExtraCorporeal Technology*, 46(3): 192–196.
- [9] Luensmann, D., & Jones, L. (2012). *Protein deposition on contact lenses: The past, the present, and the future*. *Contact Lens and Anterior Eye*, 35(2), 53–64.
- [10] Bélanger, M.-C., & Marois, Y. (2001). *Hemocompatibility, biocompatibility, inflammatory and in vivo studies of primary reference materials low-density polyethylene and polydimethylsiloxane: A review*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 58(5), 467–477.
- [11] Kovach, K. M., Capadona, J. R., Sen Gupta, A., & Potkay, J. A. (2014). *The effects of PEG-based surface modification of PDMS microchannels on long-term hemocompatibility*. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, n/a–n/a.
- [12] Xia, X.-K., Wang, X.-H., Zhang, W., Han, X.-L., Chen, P., & Jiang, Y. (2019). *Improving the wettability and antiprotein adsorption property of PDMS by swelling–deswelling approach*. *Journal of Coatings Technology and Research*.
- [13] Xue, P., Li, Q., Li, Y., Sun, L., Zhang, L., Xu, Z., & Kang, Y. (2017). *Surface Modification of Poly(dimethylsiloxane) with Polydopamine and Hyaluronic Acid To Enhance Hemocompatibility for Potential Applications in Medical Implants or Devices*. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(39), 33632–33644.
- [14] Zhou, J., Ellis, A. V., & Voelcker, N. H. (2010). *Recent developments in PDMS surface modification for microfluidic devices*. *ELECTROPHORESIS*, 31(1), 2–16.

- [15] Abbasi, F., Mirzadeh, H., & Katbab, A.-A. (2001). Modification of polysiloxane polymers for biomedical applications: a review. *Polymer International*, 50(12), 1279–1287.
- [16] Wendel, H. (1999). Coating-techniques to improve the hemocompatibility of artificial devices used for extracorporeal circulation. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 16(3), 342–350.
- [17] Von Segesser, L. K. (2003). Safety and efficacy of heparin-bonded surfaces in cardiopulmonary bypass. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 125(3), S90–S91.
- [18] Biran, R., & Pond, D. (2017). Heparin coatings for improving blood compatibility of medical devices. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 112, 12–23.
- [19] Lin, P. H., Bush, R. L., Yao, Q., Lumsden, A. B., & Chen, C. (2004). Evaluation of platelet deposition and neointimal hyperplasia of heparin-coated small-caliber ePTFE grafts in a canine femoral artery bypass model. *Journal of Surgical Research*, 118(1), 45–52.
- [20] Lee, K.-B., Kim, B., Lee, Y.-H., Yoon, S.-J., Kang, W.-H., Huh, W., ... Kim, Y.-G. (2004). Hemodialysis Using Heparin-Bound Hemophan in Patients at Risk of Bleeding. *Nephron Clinical Practice*, 97(1), c5–c10.
- [21] Thorslund, S., Sanchez, J., Larsson, R., Nikolajeff, F., & Bergquist, J. (2005). Functionality and stability of heparin immobilized onto poly(dimethylsiloxane). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 45(2), 76–81.
- [22] Brynda, E., Houska, M., Jirouskova, M., & Dyr, J. E. (2000). Albumin and heparin multilayer coatings for blood-contacting medical devices. *Journal of Biomedical Materials Research*, 51(2), 249–257.
- [23] Sperling, C., Houska, M., Brynda, E., Streller, U., & Werner, C. (2006). In vitro hemocompatibility of albumin–heparin multilayer coatings on polyethersulfone prepared by the layer-by-layer technique. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 76A(4), 681–689.
- [24] Bekheit, M., Bucur, P., Vibert, E., Andres, C. (2016). The reference values for hepatic oxygen consumption and net lactate production, blood gasses, hemogram, major electrolytes, and kidney and liver profiles in anesthetized large white swine model. *Translational surgery*, 1(4), 95-100.
- [25] Drieu, C. (2009). *Hématologie en médecine bovine et application à la réalisation d'une transfusion*. These de doctorat. Faculté de médecine de Creteil.
- [26] U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, "Guidance for Cardiopulmonary Bypass Oxygenators 510(k) Submissions; Final Guidance for Industry and FDA Staff," November 2000.
- [27] Windberger, U., Bartholovitsch, A., Plasenzotti, R., Korak, K. J., & Heinze, G. (2003). Whole Blood Viscosity, Plasma Viscosity and Erythrocyte Aggregation in Nine Mammalian Species: Reference Values and Comparison of Data. *Experimental Physiology*, 88(3), 431–440.
- [28] Serianni, R., Barash, J., Bentley, T., Sharma, P., Fontana, J. L., Via, D., ... Mongan, P. D. (2003). Porcine-specific hemoglobin saturation measurements. *Journal of Applied Physiology*, 94(2), 561–566.

[29] Ponio, J. B.-D., El-Ayoubi, F., Glacial, F., Ganeshamoorthy, K., Driancourt, C., Godet, M., ... Uzan, G. (2014). Instruction of Circulating Endothelial Progenitors In Vitro towards Specialized Blood-Brain Barrier and Arterial Phenotypes. PLoS ONE, 9(1), e84179.

[30] Nallam, S. (2018). Superior vena cava syndrome. Internet, disponible sur : <https://www.slideshare.net/SreekanthNallam/superior-vena-cava-syndrome-86123968>

[31] <https://www.youtube.com/watch?v=SxA4xNju2lM&feature=youtu.be>

Annexes

Annexe 1

Nombre de dispositifs tri-couches fabriqué au cours de cette thèse

Raison de la fabrication	Nombre	Modèle
Tests fluidiques, mécaniques et d'étanchéités	12	Modèle I
Test d'oxygénation et de retrait du CO ₂	12	Modèle II
Test d'oxygénation et de retrait du CO ₂	20	Modèle III
Test d'oxygénation et de retrait du CO ₂ pour des dispositif composé de 3 structures tri-couches	12	Modèle III
Tests fluidiques, mécaniques et d'étanchéités pour des dispositif composé de 3 structures tri-couches	12	Modèle III
Endothélialisation par l'équipe de l'Inserm U1197	12	Modèle III (sans la membrane ni le module de gaz)
Test d'oxygénation et de retrait du CO ₂	10	Modèle IV

Annexe 2

Calcul de la résistance hydraulique R_h et de la chute de pression ΔP dans le dispositif

Pour rappel :

$$R_h = \frac{12\eta L}{1 - 0,63 \left(\frac{H}{W}\right)} \frac{1}{WH^3}$$

$$\Delta P = Q \times R_h$$

Où η est la viscosité dynamique du fluide, L est la longueur du canal, H est la hauteur du canal, W est la largeur du canal et Q le débit sanguin.

Cette annexe décrit la méthode de calcul pour déterminer la résistance hydraulique R_h et la chute de pression ΔP dans le dispositif. Nous décrivons dans un premier temps la méthode de calcul pour estimer la résistance hydraulique totale. L'arborescence d'entrée peut être découpée en 5 niveaux représentés figure 2.13 ci-dessous. Chaque niveau est composé d'une géométrie et d'un nombre différent de branches pour répartir uniformément le fluide jusque dans les capillaires sanguin (niveau 6). La résistance hydraulique totale correspond à l'addition des résistances hydrauliques dans les 5 niveaux de l'arborescence d'entrée avec la résistance hydraulique dans le niveau 6 correspondant aux capillaires sanguins.

Dans les calculs numériques présentés partie II.3.3 de ce chapitre, la hauteur H et la longueur L des capillaires ainsi que le débit sanguin Q varient. Dans cette annexe, les valeurs de la hauteur H et du débit sanguin Q ont été choisies à titre d'exemple dans le but de comprendre comment la résistance hydraulique ainsi que le chute de pression ont été calculées. La longueur L des capillaires a été posée à 3,5 cm car c'est la longueur des capillaires dans la géométrie du modèle III.

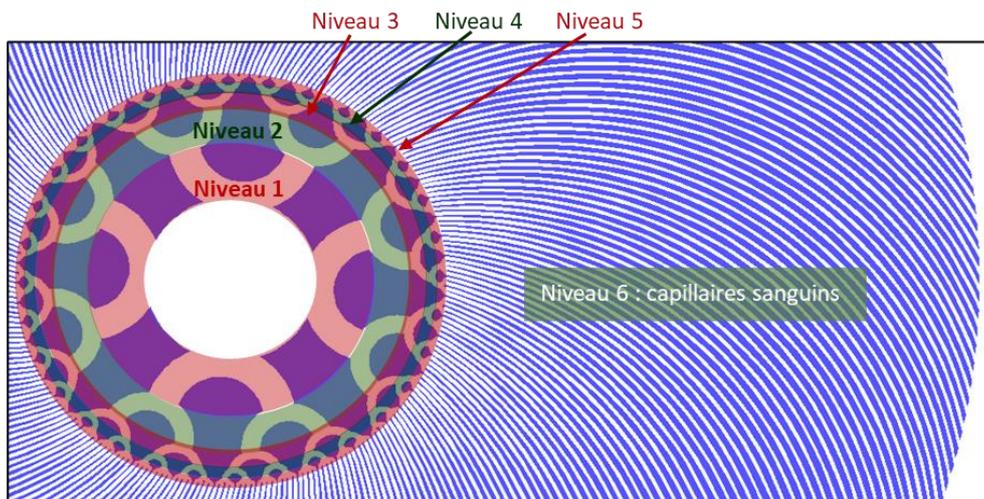


Figure 2.13. Représentation des 6 niveaux de largeur et de longueur différentes dans la géométrie du modèle III pour le calcul de la résistance hydraulique.

Paramètres :

- Hauteur de capillaires $H = 85 \mu\text{m} = 8,5 \times 10^{-5} \text{ m}$
- Viscosité dynamique du sang $\eta = 0,00414 \text{ Pa.s}$
- Débit sanguin = $1 \text{ ml/min} = 1,666 \times 10^{-8} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$

I- Calcul de la résistance dans l'arborescence d'entrée

- Niveau 1 (8 branches) $W_1 = 1535 \mu\text{m}$ and $L_1 = 3850 \mu\text{m}$:

$$R_{h1} = \frac{12\eta L}{WH^3(1-0.63H/W)} = \frac{12 \times 0,00414 \times 3,85 \times 10^{-3}}{1,535 \times 10^{-3} \times 6,14 \times 10^{-13}(1-0,0554)} = = \mathbf{2,106 \times 10^{11}}$$

- Niveau 2 (16 branches) $W_2 = 921 \mu\text{m}$ and $L_2 = 2450 \mu\text{m}$:

$$R_{h2} = \frac{12\eta L}{WH^3(1-0.63H/W)} = \frac{12 \times 0,00414 \times 2,45 \times 10^{-3}}{9,21 \times 10^{-4} \times 6,14 \times 10^{-13}(1-0,0581)} = = \mathbf{2,289 \times 10^{11}}$$

- Niveau 3 (32 branches) $W_3 = 453 \mu\text{m}$ and $L_3 = 900 \mu\text{m}$:

$$R_{h3} = \frac{12\eta L}{WH^3(1-0.63H/W)} = \frac{12 \times 0,00414 \times 9 \times 10^{-4}}{4,53 \times 10^{-4} \times 6,14 \times 10^{-13}(1-0,1182)} = = \mathbf{1,826 \times 10^{11}}$$

- Niveau 4 (64 branches) $W_4 = 316 \mu\text{m}$ and $L_4 = 500 \mu\text{m}$:

$$R_{h4} = \frac{12\eta L}{WH^3(1-0.63H/W)} = \frac{12 \times 0,00414 \times 5 \times 10^{-4}}{3,16 \times 10^{-4} \times 6,14 \times 10^{-13}(1-0,1694)} = = \mathbf{1,544 \times 10^{11}}$$

- Niveau 5 (128 branches) $W_5 = 200 \mu\text{m}$ and $L_5 = 200 \mu\text{m}$:

$$R_{h5} = \frac{12\eta L}{WH^3(1-0.63H/W)} = \frac{12 \times 0,00414 \times 2 \times 10^{-4}}{2 \times 10^{-4} \times 6,14 \times 10^{-13}(1-0,2677)} = = \mathbf{1,107 \times 10^{11}}$$

$$R_{h,arborescence} = \frac{R_{h1}}{8} + \frac{R_{h2}}{16} + \frac{R_{h3}}{32} + \frac{R_{h4}}{64} + \frac{R_{h5}}{128} = \mathbf{4,962 \times 10^{10}}$$

II- Calcul de la résistance dans les capillaires sanguins

- Niveau 6 (256 capillaires) $W_6 = 200 \mu\text{m}$ and $L_6 = 3,5 \text{ cm}$

$$R_{h6} = \frac{12\eta L}{WH^3(1-0.63H/W)} = \frac{12 \times 0,00414 \times 3,5 \times 10^{-2}}{2 \times 10^{-4} \times 6,14 \times 10^{-13}(1-0,26775)} = \mathbf{1,937 \times 10^{13}}$$

$$R_{h,capillaires} = \frac{R_{h6}}{256} = 7,567 \times 10^{10}$$

III- Calcul de la résistance totale

$$R_{h,tot} = R_{h,arborescence} + R_{h,capillaires} = \mathbf{1,253 \times 10^{11}}$$

IV- Calcul de la chute de pression

$$\Delta P = Q \times R_{h,tot} = 1,666 \times 10^{-8} \times 1,253 \times 10^{11} = 2088,24 \text{ Pa} = 15,66 \text{ mmHg}$$

En conclusion, pour une hauteur de capillaires de 85 μm et un débit sanguin de 1 ml/min, la chute de pression théorique dans le dispositif est de 15,66 mmHg. Cette méthode de calcul a été réalisée pour différentes hauteurs de capillaires (35 ; 85 ; 105 et 135 μm), différentes longueurs de capillaires (2,5 ; 3,5 ; 4,5 et 5,5 cm) et différents débits sanguin (1, 5, 10 et 15 ml/min) afin de déterminer les paramètres adéquats pour obtenir une chute de pression inférieure à 100 mmHg. Les résultats des calculs numériques sont présentés partie II.3.3 de ce chapitre.

Annexe 3

Calcul du nombre de Reynolds Re dans le dispositif

Pour rappel :

$$Re = \frac{\rho v l}{\eta}$$

Où ρ est la masse volumique du fluide (en kg.m^{-3}), v est la vitesse du fluide (en m.s^{-1}), l est la dimension caractéristique de l'écoulement (en m), et η est la viscosité dynamique du fluide (en Pa.s).

Cette annexe décrit la méthode de calcul pour déterminer le nombre de Reynolds Re au sein du dispositif modèle III. Dans les calculs numériques présentés partie II.3.3 de ce chapitre, la hauteur H des capillaires (qui correspond à la dimension caractéristique de l'écoulement l), ainsi que le débit sanguin totale Q varient. Dans cette annexe, les valeurs de la hauteur H ($35 \mu\text{m}$), du débit sanguin totale Q (1 ml/min) ont été choisies à titre d'exemple, dans le but de comprendre comment le nombre de Reynold a été calculé. La largeur W des capillaires est fixe pour une valeur de $200 \mu\text{m}$. La viscosité dynamique du sang, quant à elle, a été estimée à $0,00414 \text{ Pa.s}$ (comme expliqué partie II.1 de ce chapitre) et la masse volumique du sang est d'environ 1060 Kg.m^{-3} . Pour rappel, la vitesse du sang dans le dispositif est égale au débit sanguin total Q divisé par la surface total S_T des capillaires sanguins ($H \times W \times 256$).

Paramètres :

- Hauteur des capillaires sanguins $H = 35 \mu\text{m} = 3,5 \times 10^{-5} \text{ m}$
- Largeur des capillaires sanguins $W = 200 \mu\text{m} = 2 \times 10^{-4} \text{ m}$
- Viscosité dynamique du sang $\eta = 0,00414 \text{ Pa.s}$
- Débit sanguin total $Q = 1 \text{ ml/min} = 1,666 \times 10^{-8} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$
- Vitesse du sang $v = \frac{Q}{S_T} = \frac{1,666 \cdot 10^{-8}}{H \cdot W \cdot 256} = \frac{1,666 \cdot 10^{-8}}{3,5 \cdot 10^{-5} \times 2 \cdot 10^{-4} \times 256} = 9,2969 \times 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$
- Masse volumique du sang $\rho = 1060 \text{ Kg.m}^{-3}$

Calcul du nombre de Reynolds Re :

$$Re = \frac{\rho v l}{\eta} = \frac{1060 \times 9,2969 \cdot 10^{-3} \times 3,5 \cdot 10^{-5}}{0,00414} = 8,331 \times 10^{-2}$$

En conclusion, pour une hauteur de capillaires de $35 \mu\text{m}$ et un débit sanguin de 1 ml/min , le nombre de Reynolds Re dans le dispositif est de $8,331 \times 10^{-2}$. Cette méthode de calcul a été réalisée pour différentes hauteurs de capillaires ($35 ; 85 ; 105$ et $135 \mu\text{m}$), et différents débits sanguin ($1, 5, 10$ et 15 ml/min). **En fonction des différentes valeurs de hauteur de capillaires et de débit sanguin, il ressort que le nombre de Reynolds Re est compris entre $8,331 \times 10^{-2}$ et $1,25$.**

Annexe 4

Calcul du taux de cisaillement dans le dispositif

Rappel :

On a vu partie II de ce chapitre que le taux de cisaillement $\dot{\gamma}$ (en s^{-1}) dans un microcanal était dépendant de la contrainte de cisaillement τ (en Pa) et de la viscosité dynamique du fluide η (en Pa.s) :

$$\dot{\gamma} = \frac{\tau}{\eta}$$

D'autre part, pour un débit régulier entre deux plaques parallèles, la contrainte de cisaillement de la paroi τ d'un microcanal (en Pa) peut être calculée en fonction du débit du fluide Q_c dans le microcanal [60] :

$$\tau = \frac{6 \eta Q_c}{W H^2}$$

Où η est la viscosité dynamique du fluide (en Pa.s), Q_c le débit du fluide dans un microcanal ($m^3.s^{-1}$), W est la largeur du canal et H la hauteur de canal (en m).

On en déduit que :

$$\dot{\gamma} = \frac{6 Q_c}{W H^2}$$

Cette annexe décrit la méthode de calcul pour déterminer le taux de cisaillement $\dot{\gamma}$ dans le dispositif. Dans les calculs numériques présentés partie II.3.3 de ce chapitre, la hauteur H des capillaires ainsi que le débit sanguin totale Q varient. Dans cette annexe, les valeurs de la hauteur H (85 μm) et du débit sanguin Q (10 ml/min) ont été choisies à titre d'exemple dans le but de comprendre comment la contrainte de cisaillement ainsi que le taux de cisaillement ont été calculés. La largeur W des capillaires est fixe pour une valeur de 200 μm .

Paramètres :

- Hauteur des capillaires sanguins $H = 85 \mu m = 8,5 \times 10^{-5} m$
- Largeur des capillaires sanguins $W = 200 \mu m = 2 \times 10^{-4} m$
- Débit sanguin total $Q = 10 \text{ ml/min} = 1,6667 \times 10^{-7} m^3.s^{-1}$
- Débit sanguin dans un capillaire $Q_c = \frac{1,666.10^{-7}}{256} = 6,50781 \times 10^{-10} m^3.s^{-1}$

Calcul du taux de cisaillement :

$$\dot{\gamma} = \frac{6 Q_c}{W H^2} = \frac{6 \times 6,50781 \cdot 10^{-10}}{2 \cdot 10^{-4} \cdot (8,5 \cdot 10^{-5})^2} = 2702,20 \text{ s}^{-1}$$

En conclusion, pour une hauteur de capillaires de 85 μm et un débit sanguin de 10 ml/min, le taux de cisaillement dans le dispositif est de 2702,20 s^{-1} . Cette méthode de calcul a été réalisée pour différentes hauteurs de capillaires (35 ; 85 ; 105 et 135 μm), et différents débits sanguin (1, 5, 10 et 15 ml/min). **En fonction des différentes valeurs de hauteur de capillaires et de débit sanguin, il en ressort que le taux de cisaillement $\dot{\gamma}$ est compris entre 107,16 et 23915,81 s^{-1} .**

Annexe 5

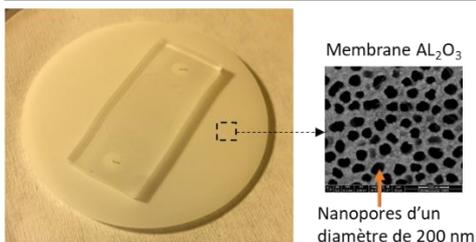
Matériaux de membrane de diffusion testés au cours de ce doctorat

	PMP	SEBS	PAN + SiO ₂	PVDF-HFD + SiO ₂	Membrane nanoporeuse AL ₂ O ₃	PDMS
Transparence	Oui	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Perméabilité à l'O ₂ (barrer)	30 *	-	- (la perméabilité n'a pas été testé)	- (la perméabilité n'a pas été testé)	- (la perméabilité n'a pas été testé)	781
Fuite de liquide (eau) à travers la membrane	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Non
Rugosité de surface	Lisse	Lisse	Rugueuse	Rugueuse	Rugueuse	Lisse
Texture du matériau	Non filamenteux	Non filamenteux	Filamenteux	Non filamenteux	Non filamenteux	Non filamenteux
Epaisseur (µm)	50	100	70	15	60	15
Biocompatible	Oui	-	-	-	-	Oui

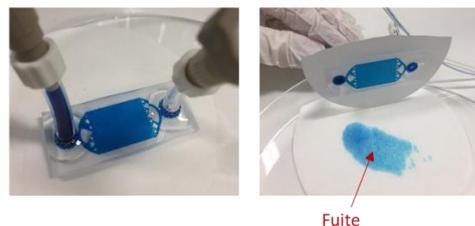
*Cornelissen, C. G. (2013). The Biohybrid Lung - Current Perspective. Journal of Biotechnology & Biomaterials, 03(04).

Ce tableau rapporte les membranes de diffusion testées au début de ce doctorat. Les cellules au fond rouge représentent les aspects indésirables des membranes pour notre application. On peut voir juste ci-dessous des photos des fuites de liquide à travers une membrane nanoporeuse AL₂O₃. Les fuites de liquide à travers la membrane représentent un des aspects indésirables.

1. Dispositif microfluidique scellé sur une membrane nanoporeuse AL₂O₃ avec un collage humide PDMS/hexane (voir partie II.2 du chapitre 3)



2. Test d'étanchéité avec du colorant bleu



Annexe 6

Calcul de la solubilité efficace moyenne de l'oxygène dans le sang : S_{s,O_2}

Dans cette partie, nous calculons la solubilité efficace moyenne de l'oxygène dans le sang S_{s,O_2} , afin de comprendre la méthode de calcul utilisée.

Pour rappel :

$$S_{s,O_2} = \frac{\int_{P_{O_2,min}}^{P_{O_2,max}} \alpha_{eff,O_2} dP_{O_2}}{P_{O_2,max} - P_{O_2,min}} \quad (eq. 2.44)$$

$$\alpha_{eff,O_2} = \alpha_{pl,O_2} + c_T \lambda_{O_2}(PO_2) \quad (eq. 2.47)$$

Où $P_{O_2,min}$ est la pression partielle en oxygène la plus faible dans le sang, correspondant à la pression partielle attendue en entrée des capillaires sanguins ; $P_{O_2,max}$ est la pression partielle en oxygène la plus élevée dans le sang, correspondant à la pression partielle attendue en sortie des capillaires sanguins ; α_{eff,O_2} est la solubilité efficace de l'oxygène à une pression partielle spécifique ; α_{pl,O_2} est la solubilité de l'oxygène dans le plasma sanguin (3×10^{-5} ml O₂/ml sang/mmHg [46]) ; $c_T = 1,39 Hct/3$ est la capacité de liaison en oxygène de l'hémoglobine (en ml O₂/ml sang) ; Hct est l'hématocrite (en fraction). Pour le sang cochon en conditions normales, Hct est environ à 33% [38] ; $\lambda_{O_2}(PO_2)$ est la pente de la courbe de dissociation de l'oxygène à l'hémoglobine ($dSatO_2/dPO_2$) pour une pression partielle en oxygène (PO_2) donnée. L'équation de la courbe de dissociation de l'oxygène à l'hémoglobine est donnée ci-dessous (eq.2.43). Elle est fonction de la pression partielle en oxygène PO_2 .

$$SatO_2 = \frac{(PO_2 / P_{50})^n}{1 + (PO_2 / P_{50})^n} \quad (eq. 2.43)$$

Où P_{50} représente la pression partielle de l'oxygène où le sang est saturé à 50% ($SatO_2=50\%$) et n est le coefficient de Hill. Pour le sang de cochon en conditions normales ($T=37^\circ C$ et $pH=7,4$), P_{50} est environ égale à 35,7 mmHg [51] et n environ égal à 2,94 [51].

Paramètres :

- $\alpha_{pl,O_2} = 3 \times 10^{-5}$ ml O₂/ml sang/mmHg
- $Hct = 33\%$
- $c_T = 1,39 Hct/3 = 0,1529$
- $P_{50} = 35,7$ mmHg
- $n = 2,94$
- $P_{O_2,max} = 195$ mmHg
- $P_{O_2,min} = 45$ mmHg

Afin de déterminer la pente $\lambda_{O_2}(PO_2)$ de la courbe de dissociation de l'oxygène à l'hémoglobine ($d\text{SatO}_2/dPO_2$), on estime **la dérivée de l'équation de la courbe de dissociation de l'oxygène** à l'hémoglobine en fonction de la pression partielle en oxygène comme ci-dessous :

$$f'(x) = \frac{\frac{n}{P_{50}} \left(\frac{x}{P_{50}}\right)^{n-1}}{\left(1 + \left(\frac{x}{P_{50}}\right)^n\right)^2}$$

α_{eff,O_2} peut donc s'écrire :

$$\alpha_{eff,O_2} = \alpha_{pl,O_2} + c_T \frac{\frac{n}{P_{50}} \left(\frac{x}{P_{50}}\right)^{n-1}}{\left(1 + \left(\frac{x}{P_{50}}\right)^n\right)^2}$$

S_{s,O_2} peut donc s'écrire :

$$S_{s,O_2} = \frac{\int_{P_{O_2,min}}^{P_{O_2,max}} \alpha_{pl,O_2} + c_T \frac{\frac{n}{P_{50}} \left(\frac{x}{P_{50}}\right)^{n-1}}{\left(1 + \left(\frac{x}{P_{50}}\right)^n\right)^2} dx}{P_{O_2,max} - P_{O_2,min}}$$

$$S_{s,O_2} = \frac{\int_{45}^{195} \left[3 \times 10^{-5} + 0,1474 \frac{\frac{2,94}{35,7} \left(\frac{x}{35,7}\right)^{1,94}}{\left(1 + \left(\frac{x}{35,7}\right)^{2,94}\right)^2} \right] dx}{195 - 45}$$

➤ En utilisant une calculatrice TI-83, on trace la fonction :

$$f(x) = 3 \times 10^{-5} + 0,1529 \frac{\frac{2,94}{35,7} \left(\frac{x}{35,7}\right)^{1,94}}{\left(1 + \left(\frac{x}{35,7}\right)^{2,94}\right)^2}$$

➤ Puis on trace **son intégrale** $\int_{45}^{195} f(x) dx$ en utilisant comme borne inférieure $x_{min} = 45$ et comme borne supérieure $x_{max} = 195$. Le résultat donné par la calculatrice est 0,05486052. On peut donc écrire :

$$S_{s,O_2} = \frac{0,05486052}{150} = 3,65 \times 10^{-4}$$

Sur la plage de pressions partielles en oxygène (PO_2) allant de 45 mmHg à 195 mmHg, on trouve une solubilité efficace moyenne S_{s,O_2} de $3,65 \times 10^{-4}$ ml O_2 /ml sang/mmHg.

Calcul de la diffusivité efficace moyenne de l'oxygène dans le sang : D_{s,O_2}

Dans cette partie, nous calculons la diffusivité efficace moyenne de l'oxygène dans le sang D_{s,O_2} , afin de comprendre la méthode de calcul utilisé.

Pour rappel :

$$D_{s,O_2} = \frac{\int_{P_{O_2,min}}^{P_{O_2,max}} D_{eff,O_2} dP_{O_2}}{P_{O_2,max} - P_{O_2,min}} \quad (eq. 2.45)$$

$$D_{eff,O_2} = \frac{D_{pl,O_2}}{1 + c_T \frac{\lambda_{O_2}(P_{O_2})}{\alpha_{pl,O_2}}} \quad (eq. 2.46)$$

Où $P_{O_2,min}$ est la pression partielle en oxygène la plus faible dans le sang, correspondant à la pression partielle attendue en entrée des capillaires sanguins ; $P_{O_2,max}$ est la pression partielle en oxygène la plus élevée dans le sang, correspondant à la pression partielle attendue en sortie des capillaires sanguins ; D_{eff,O_2} est la diffusivité efficace de l'oxygène à une pression partielle spécifique ; D_{pl,O_2} est la diffusivité de l'oxygène dans le plasma sanguin ($1,8 \times 10^{-5}$ cm²/s [46]) ; α_{pl,O_2} est la solubilité de l'oxygène dans le plasma sanguin (3×10^{-5} ml O₂/ml sang/mmHg [46]) ; $c_T = 1,39 \text{ Hct}/3$ est la capacité de liaison en oxygène de l'hémoglobine (en ml O₂/ml sang) ; Hct est l'hématocrite (en fraction). Pour le sang cochon en conditions normales, Hct est d'environ 33% [38] ; $\lambda_{O_2}(P_{O_2})$ est la pente de la courbe de dissociation de l'oxygène à l'hémoglobine ($d\text{SatO}_2/dP_{O_2}$) pour une pression partielle en oxygène (P_{O_2}) donnée. L'équation de la courbe de dissociation de l'oxygène à l'hémoglobine est donnée ci-dessous (eq.2.43). Elle est fonction de la pression partielle en oxygène P_{O_2} .

$$\text{SatO}_2 = \frac{(P_{O_2} / P_{50})^n}{1 + (P_{O_2} / P_{50})^n} \quad (eq. 2.43)$$

Où P_{50} représente la pression partielle de l'oxygène où le sang est saturé à 50% ($\text{SatO}_2=50\%$) et n est le coefficient de Hill. Pour le sang de cochon en conditions normales ($T=37^\circ\text{C}$ et $\text{pH}=7,4$), P_{50} est environ égale à 35,7 mmHg [51] et n environ égale à 2,94 [51].

Paramètres :

- $D_{pl,O_2} = 1,8 \times 10^{-5}$ cm²/s
- $\alpha_{pl,O_2} = 3 \times 10^{-5}$ ml O₂/ml sang/mmHg
- $\text{Hct} = 33\%$
- $c_T = 1,39 \text{ Hct}/3 = 0,1529$
- $P_{50} = 35,7$ mmHg
- $n = 2,94$
- $P_{O_2,max} = 195$ mmHg
- $P_{O_2,min} = 45$ mmHg

Afin de déterminer la pente $\lambda_{O_2}(PO_2)$ de la courbe de dissociation de l'oxygène à l'hémoglobine ($d\text{Sat}_{O_2}/dPO_2$), on estime **la dérivée de l'équation de la courbe de dissociation de l'oxygène** à l'hémoglobine en fonction de la pression partielle en oxygène comme ci-dessous :

$$f'(x) = \frac{\frac{n}{P_{50}} \left(\frac{x}{P_{50}}\right)^{n-1}}{\left(1 + \left(\frac{x}{P_{50}}\right)^n\right)^2}$$

D_{eff,O_2} s'écrit :

$$D_{eff,O_2} = \frac{D_{pl,O_2}}{1 + c_T \frac{\lambda_{O_2}(PO_2)}{\alpha_{pl,O_2}}}$$

On pose $A = 1 + c_T \frac{\lambda_{O_2}(PO_2)}{\alpha_{pl,O_2}}$

Calcul de A :

$$A = c_T \frac{\frac{\frac{n}{P_{50}} \left(\frac{x}{P_{50}}\right)^{n-1}}{\left(1 + \left(\frac{x}{P_{50}}\right)^n\right)^2}}{\alpha_{pl,O_2}}$$

$$A = \frac{c_T n}{P_{50} \alpha_{pl,O_2}} \times \frac{\left(\frac{x}{P_{50}}\right)^{n-1}}{\left(1 + \left(\frac{x}{P_{50}}\right)^n\right)^2}$$

D_{eff,O_2} peut donc s'écrire :

$$D_{eff,O_2} = \frac{D_{pl,O_2}}{1 + \frac{c_T n}{P_{50} \alpha_{pl,O_2}} \times \frac{\left(\frac{x}{P_{50}}\right)^{n-1}}{\left(1 + \left(\frac{x}{P_{50}}\right)^n\right)^2}}$$

$$D_{eff,O_2} \approx \frac{1,8 \times 10^{-5}}{1 + 417,72 \frac{\left(\frac{x}{35,7}\right)^{1,94}}{\left(1 + \left(\frac{x}{35,7}\right)^{2,94}\right)^2}}$$

D_{s,O_2} peut donc s'écrire :

$$D_{s,O_2} = \frac{\int_{P_{O_2, \min}}^{P_{O_2, \max}} \frac{1,8 \times 10^{-5}}{1 + 417,72 \frac{\left(\frac{x}{35,7}\right)^{1,94}}{\left(1 + \left(\frac{x}{35,7}\right)^{2,94}\right)^2}} dx}{195 - 45}$$

- En utilisant une calculatrice TI-83, on trace la fonction :

$$f(x) = \frac{1,8 \times 10^{-5}}{1 + 417,72 \frac{\left(\frac{x}{35,7}\right)^{1,94}}{\left(1 + \left(\frac{x}{35,7}\right)^{2,94}\right)^2}}$$

- Puis on trace **son intégrale** $\int_{45}^{195} f(x) dx$ en utilisant comme borne inférieure $x_{\min} = 45$ et comme borne supérieure $x_{\max} = 195$. Le résultat donné par la calculatrice est $7,3356 \times 10^{-4}$. On peut donc écrire :

$$D_{s,O_2} = \frac{7,3356 \times 10^{-4}}{150} = 4,89 \times 10^{-6}$$

Sur la plage de pressions partielles en oxygène (PO_2) allant de 45 mmHg à 195 mmHg, on trouve une diffusivité efficace moyenne D_{s,O_2} de $4,89 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$.

Calcul de la solubilité efficace moyenne du dioxyde de carbone dans le sang : S_{s,CO_2}

Dans cette partie, nous calculons la solubilité efficace moyenne du dioxyde de carbone dans le sang S_{s,CO_2} , afin de comprendre la méthode de calcul utilisé.

Pour rappel :

$$S_{s,CO_2} = \frac{\int_{P_{CO_2,min}}^{P_{CO_2,max}} \alpha_{eff,CO_2} dP_{CO_2}}{P_{CO_2,max} - P_{CO_2,min}} \quad (eq. 2.49)$$

$$\alpha_{eff,CO_2} = \lambda_{CO_2}(PCO_2) \quad (eq. 2.52)$$

$P_{CO_2,min}$ est la pression partielle en dioxyde de carbone la plus faible dans le sang, correspondant à la pression partielle attendue en entrée des capillaires sanguins ; $P_{CO_2,max}$ est la pression partielle en dioxyde de carbone la plus élevée dans le sang, correspondant à la pression partielle attendue en sortie des capillaires sanguins ; α_{eff,CO_2} est la solubilité efficace du dioxyde de carbone à une pression partielle donnée ; $\lambda_{CO_2}(PCO_2)$ est la pente de la fraction volumique du dioxyde de carbone ($dC_B/dPCO_2$) pour une pression partielle en dioxyde de carbone (PCO_2) donnée. Mochizuki *et coll.* [49] a décrit une équation reliant la fraction volumique de dioxyde de carbone dans le sang (en tenant compte de toutes ses formes) à la pression partielle de dioxyde de carbone (PCO_2). Cette équation est donnée dans l'équation 2.48 ci-dessous :

$$C_B = \frac{A_M B_M^{-2,548} PCO_2^{B_M}}{100} \quad (eq. 2.48)$$

Ou C_B est la fraction volumique de dioxyde de carbone dans le sang, A_M et B_M sont des constantes qui doivent être déterminées pour un échantillon de sang spécifique. Ici, nous choisissons des valeurs de A_M et B_M estimées par Mochizuki *et coll.* [49] : A_M est estimée à 1,07 et B_M est estimée à 0,46 pour un sang veineux.

Paramètres :

- $A_M = 1,07$
- $B_M = 0,46$
- $P_{CO_2,max} = 60$ mmHg
- $P_{CO_2,min} = 20$ mmHg

Afin de déterminer la pente $\lambda_{CO_2}(PCO_2)$ de la courbe de dissociation de l'oxygène à l'hémoglobine ($dC_B/dPCO_2$), on estime **la dérivée de l'équation de la courbe de dissociation de l'oxygène** à l'hémoglobine en fonction de la pression partielle en dioxyde de carbone comme ci-dessous :

$$f'(x) = \frac{A_M B_M B_M^{-2,548} x^{B_M-1}}{100}$$

$$f'(x) = \frac{A_M B_M B_M^{-2,548} x^{B_M-1}}{100}$$

$$f'(x) = \frac{1,07 \times 0,46 \times 0,46^{-2,548} x^{-0,54}}{100}$$

$$f'(x) \approx 3,5598 \times 10^{-2} x^{-0,54}$$

α_{eff,CO_2} peut donc s'écrire :

$$\alpha_{eff,CO_2} \approx 3,5598 \times 10^{-2} x^{-0,54}$$

S_{s,CO_2} peut donc s'écrire :

$$S_{s,CO_2} = \frac{\int_{20}^{60} 3,5598 \times 10^{-2} x^{-0,54} dx}{60 - 20}$$

➤ En utilisant une calculatrice TI-83, on trace la fonction :

$$f(x) = 3,5598 \times 10^{-2} x^{-0,54}$$

➤ Puis on trace **son intégrale** $\int_{20}^{60} f(x) dx$ en utilisant comme borne inférieure $x_{\min} = 20$ et comme borne supérieure $x_{\max} = 60$. Le résultat donné par la calculatrice est 0,20188004. On peut donc écrire :

$$S_{s,CO_2} = \frac{0,20188004}{40} = 5,05 \times 10^{-3}$$

Sur la plage de pressions partielles en dioxyde de carbone (PCO_2) allant de 20 mmHg à 60 mmHg, on trouve une solubilité efficace moyenne S_{s,CO_2} de $5,05 \times 10^{-3}$ ml CO_2 /ml sang/mmHg.

Calcul de la diffusivité efficace moyenne du dioxyde de carbone dans le sang : D_{s,CO_2}

Dans cette partie, nous calculons la diffusivité efficace moyenne du dioxyde de carbone dans le sang S_{s,CO_2} , afin de comprendre la méthode de calcul utilisé.

Pour rappel :

$$D_{s,CO_2} = \frac{\int_{P_{CO_2,min}}^{P_{CO_2,max}} D_{eff,CO_2} dP_{CO_2}}{P_{CO_2,max} - P_{CO_2,min}} \quad (eq. 2.50)$$

$$D_{eff,CO_2} = \frac{D_{pl,CO_2}}{\frac{\lambda_{CO_2}(PCO_2)}{\alpha_{pl,CO_2}}} \quad (eq. 2.51)$$

$P_{CO_2,min}$ est la pression partielle en dioxyde de carbone la plus faible dans le sang, correspondant à la pression partielle attendue en entrée des capillaires sanguins ; $P_{CO_2,max}$ est la pression partielle en dioxyde de carbone la plus élevée dans le sang, correspondant à la pression partielle attendue en sortie des capillaires sanguins ; D_{eff,CO_2} est la diffusivité efficace du dioxyde de carbone à une pression partielle donnée ; D_{pl,CO_2} , est la diffusivité du dioxyde de carbone dans le plasma sanguin ($2,5 \times 10^{-5}$ cm²/s [50]), et α_{pl,CO_2} est la solubilité du dioxyde de carbone dans le plasma sanguin (6×10^{-4} ml CO₂/ml sang/mmHg [50]). $\lambda_{CO_2}(PCO_2)$ est la pente de la courbe de la fraction volumique de dioxyde de carbone ($dC_B/dPCO_2$), donnée dans l'équation 2.48, pour une pression partielle en dioxyde de carbone (PCO_2) donnée.

$$C_B = \frac{A_M B_M^{-2,548} PCO_2^{B_M}}{100} \quad (eq. 2.48)$$

Ou C_B est la fraction volumique de dioxyde de carbone dans le sang, A_M et B_M sont des constantes qui doivent être déterminées pour un échantillon de sang spécifique. Ici, nous choisissons des valeurs de A_M et B_M estimées par Mochizuki *et coll.* [49] : A_M est estimée à 1,07 et B_M est estimée à 0,46 pour un sang veineux.

Paramètres :

- $A_M = 1,07$
- $B_M = 0,46$
- $\alpha_{pl,CO_2} = 6 \times 10^{-4}$ ml CO₂/ml sang/mmHg
- $D_{pl,CO_2} = 2,5 \times 10^{-5}$ cm²/s
- $P_{CO_2,max} = 60$ mmHg
- $P_{CO_2,min} = 20$ mmHg

Afin de déterminer la pente $\lambda_{CO_2}(PCO_2)$ de la courbe de dissociation de l'oxygène à l'hémoglobine ($dC_B/dPCO_2$), on estime **la dérivée de l'équation de la courbe de dissociation de l'oxygène** à l'hémoglobine en fonction de la pression partielle en dioxyde de carbone comme ci-dessous :

$$f'(x) = \frac{A_M B_M B_M^{-2,548} x^{B_M-1}}{100}$$

$$f'(x) = \frac{A_M B_M B_M^{-2,548} x^{B_M-1}}{100}$$

$$f'(x) = \frac{A_M B_M B_M^{-2,548} x^{B_M-1}}{100}$$

$$f'(x) = \frac{1,07 \times 0,46 \times 0,46^{-2,548} x^{-0,54}}{100}$$

$$f'(x) \approx 3,5598 \times 10^{-2} x^{-0,54}$$

D_{eff,CO_2} peut donc s'écrire :

$$D_{eff,CO_2} \approx \frac{2,5 \times 10^{-5} \times 6 \times 10^{-4}}{3,5598 \times 10^{-2} x^{-0,54}}$$

$$D_{eff,CO_2} \approx \frac{4,2137 \times 10^{-7}}{x^{-0,54}}$$

D_{s,CO_2} peut donc s'écrire :

$$D_{s,CO_2} = \frac{\int_{20}^{60} \frac{4,2137 \times 10^{-7}}{x^{-0,54}} dx}{60 - 20}$$

➤ En utilisant une calculatrice TI-83, on trace la fonction :

$$f(x) = \frac{4,2137 \times 10^{-7}}{x^{-0,54}}$$

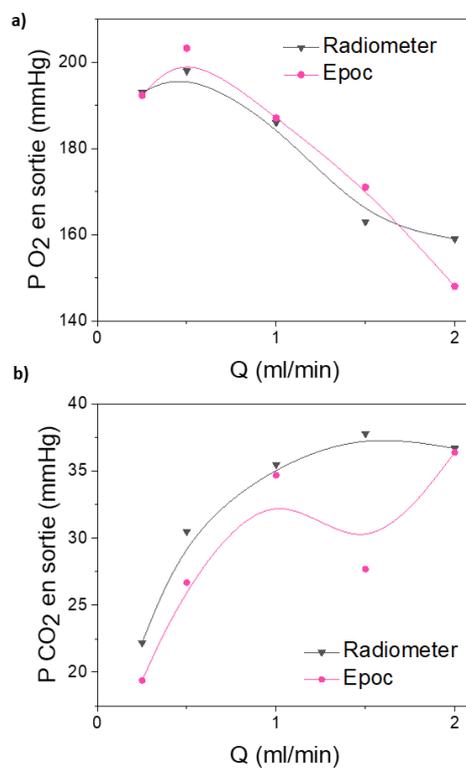
➤ Puis on trace **son intégrale** $\int_{20}^{60} f(x) dx$ en utilisant comme borne inférieure $x_{\min} = 20$ et comme borne supérieure $x_{\max} = 60$. Le résultat donné par la calculatrice est $1,2221 \times 10^{-4}$. On peut donc écrire :

$$D_{s,CO_2} = \frac{1,2221 \times 10^{-4}}{40} = 3,05 \times 10^{-6}$$

Sur la plage de pressions partielles en dioxyde de carbone (PCO_2) allant de 20 mmHg à 60 mmHg, on trouve une diffusivité efficace moyenne D_{s,CO_2} de $3,05 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$.

Annexe 7

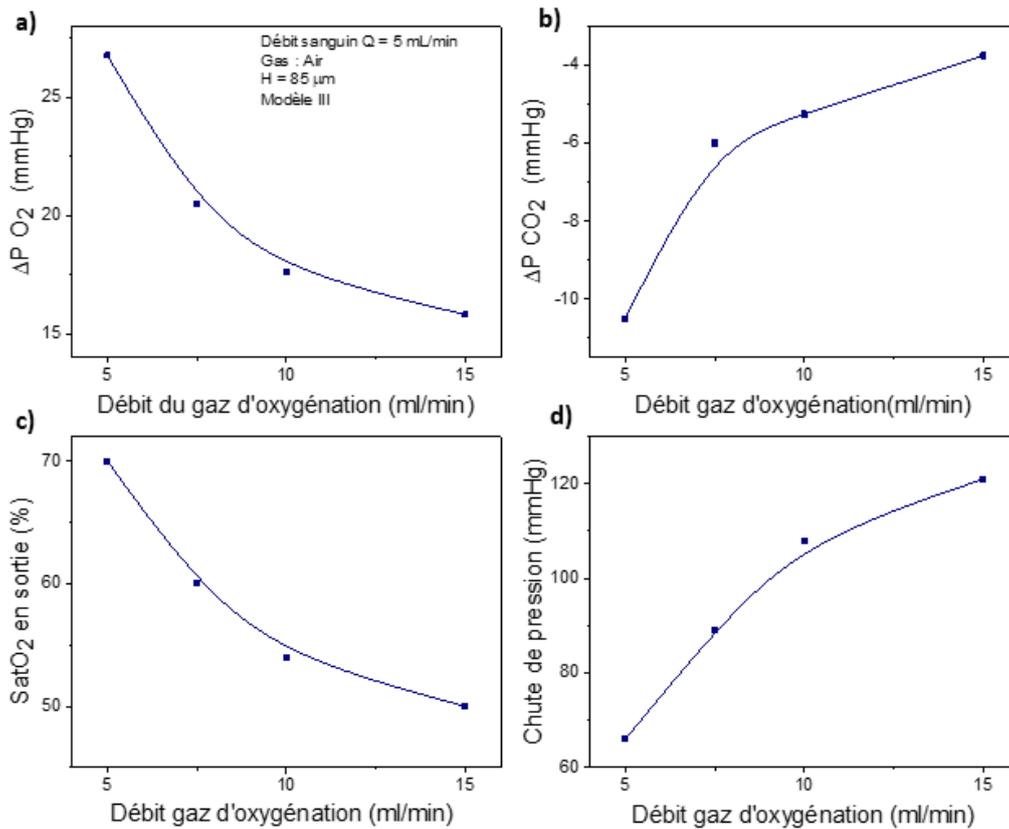
Comparaison de deux systèmes d'analyses sanguine : Epoc et radiometer ABL800 Flex



On observe sur les figures ci-dessus les valeurs de pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone en sortie de dispositif mesurées avec deux systèmes d'analyses de sang différent : Epoc et Radiometer ABL800 Flex. On peut conclure que le système Epoc donne des valeurs assez similaires au système radiometer. La géométrie utilisée est le modèle III, la hauteur des capillaires est de 85 μm et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur.

Annexe 8

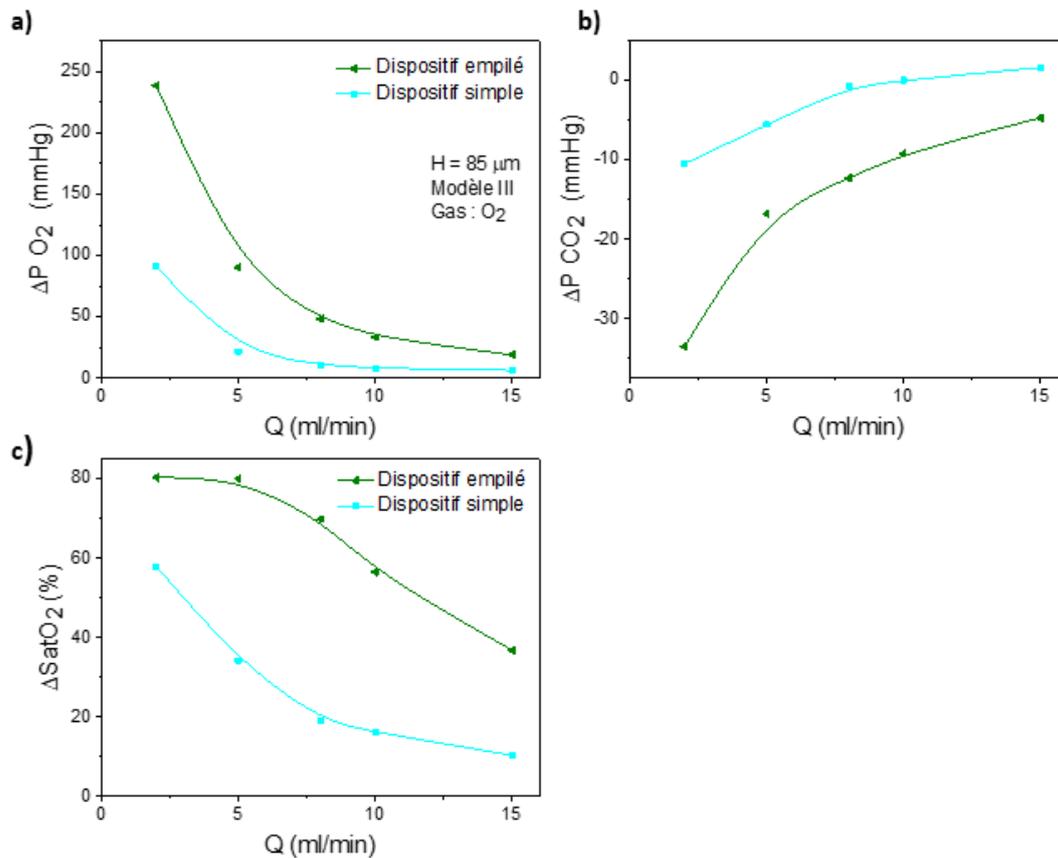
Variation du débit du gaz d'oxygénation pour un débit sanguin fixe



Résultats des expérimentations d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone pour un dispositif dont le débit du gaz d'oxygénation varie pour un débit sanguin fixe. La hauteur des capillaires est de 85 μ m, la géométrie est celle du modèle III et le gaz d'oxygénation est de l'air. Il est présenté en (a) la variation de la pression partielle en oxygène ΔPO_2 et (b) en dioxyde de carbone ΔPCO_2 entre l'entrée et la sortie du dispositif, en (c) la variation de la saturation en oxygène entre l'entrée et la sortie du dispositif ($\Delta SatO_2$), en (d) la chute de pression sanguine en fonction du débit sanguin. On remarque l'échange de gaz diminue en fonction du débit du gaz d'oxygénation, ce qui suppose que la chute de pression est encore trop élevée coté module de gaz pour une hauteur de microcanaux de 85 μ m.

Annexe 9

Comparaison entre un dispositif simple composé d'une seule structure tri-couches et un dispositif empilé composé de trois structures tri-couches



Résultats des expérimentations d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone pour un dispositif simple composé d'une seule structure tri-couches et un dispositif empilé composé de trois structures tri-couches. Pour les deux dispositifs empilés et simple, la hauteur des capillaires est de $105 \mu\text{m}$, la géométrie est celle du modèle III et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur. Il est présenté en (a) la variation de la pression partielle en oxygène ΔP_{O_2} et (b) en dioxyde de carbone ΔP_{CO_2} entre l'entrée et la sortie du dispositif ainsi qu'en (c) la variation de la saturation en oxygène entre l'entrée et la sortie du dispositif ($\Delta \text{Sat}O_2$), en fonction du débit sanguin. On remarque que l'échange de gaz est plus performant pour le dispositif empilé composé de 3 structures tri-couches.

Table des illustrations

Figure 1.1. Schéma représentant l'échange gazeux entre les alvéoles pulmonaires et les capillaires sanguins..... 12

Tableau 1.1. Valeurs théoriques dans le corps humain des pressions partielles en oxygène (PO_2) et en dioxyde de carbone (PCO_2), ainsi que la saturation en oxygène ($SatO_2$) du sang veineux et du sang artériel..... 12

Figure 1.2. Nombre d'ECMO en fonction des années, d'après le registre de l'ELSO (Extracorporeal Life Support Organization) de 2020 [10]..... 14

Figure 1.3. (a) Schéma d'un dispositif ECMO connecté au corps humain, d'après Brodie D. et coll. [11]. Il faut mentionner qu'il peut y avoir différentes configurations pour la connexion des canules sur les vaisseaux humains. Sur le schéma ci-dessus, on parle de canulation fémoro-jugulaire ; (b) une photo du système ECMO Quadrox-i Adult [13] et (c) une vue microscopique du réseau de fibres en PMP où l'on peut voir la circulation du gaz d'oxygénation (flèche bleu) et la circulation du sang (flèche rouge) [12]. 15

Tableau 1.2. Principales caractéristiques de deux oxygénateurs ECMO de pointe. 16

Tableau 1.3. Taux de transfert d'oxygène et de dioxyde de carbone maximal du dispositif ECMO Quadrox-i Adult [13] ainsi que leurs valeurs normalisées à la surface d'échange ($1,8 \text{ m}^2$). 16

Figure 1.4. (a) une vue générale du dessus de l'oxygénateur microfluidique à petite échelle montrant les entrées et les sorties du sang et de l'air, et (b) une image réalisée au MEB d'une coupe transversale du dispositif. L'image montre une vue en 3 dimensions de la structure tri-couches composée des microcanaux du module de sang (d'une hauteur de $20 \mu\text{m}$) et de la chambre ouverte du module de gaz, séparés par une membrane de diffusion de $15 \mu\text{m}$. [18]. 20

Figure 1.5. Images du dispositif de l'équipe de Potkay (A) rempli de sang hépariné en début d'expérience puis (B) à gauche, après 45 min, un dispositif PDMS sans revêtement ; et à droite, après 19 heures, un dispositif avec un revêtement PEG. Il est observé une coagulation importante en moins d'1 h dans les dispositifs sans revêtement..... 23

Figure 1.6. (a) Une vue schématique de dessus montre la superposition du module de sang et de gaz dans la structure tri-couches et (b) un schéma présentant l'empilement de deux structures tri-couches en parallèle. (c) une image d'un dispositif composé de 10 structures tri-couches empilées en parallèle. Les taux de transfert d'oxygène respectivement pour 10 structures empilées avec une hauteur de capillaires de 50 et $100 \mu\text{m}$ sont comparés en (d) [19]..... 24

Figure 1.7. (a) Images de l'ancien dispositif composé de 10 structures tri-couches avec une surface d'échange de $0,85 \text{ cm}^2$ par structure tri-couches unitaire (à gauche) et du dispositif actuel composé de

14 structures tri-couches avec une surface d'échange de 3,3 cm² par structure tri-couches unitaire (à droite), et (b) l'évolution du taux de transfert d'oxygène avec le débit sanguin mesurée et comparée pour ces deux dispositifs [21]..... 26

Figure 1.8. La formation de thrombus (fibres) au cours de l'expérimentation s'est manifestée par une occlusion de l'écoulement dans les dispositifs sans revêtement (a), tandis que l'on a observé une occlusion minimale de l'écoulement dans les dispositifs homologues composés d'un revêtement de cellules endothéliales (c). Le rinçage des dispositifs montre que le dispositif sans revêtement (b) contient une formation de thrombus plus importante que le dispositif composé d'un revêtement de cellules endothéliales (d). On peut noter que l'occlusion du flux se produit près du centre du dispositif (a) qui correspond à la formation de caillots de fibrine visualisée dans la même zone dans le dispositif rincé (b). [21]. 27

Figure 1.9. Schéma montrant la disposition du module de sang et de gaz. Les microcanaux sanguins sont recouvert par un module de gaz composé de deux compartiments parallèles. Les flèches indiquent la direction d'écoulement du sang et du gaz. [23]. 28

Figure 1.10. (a) Une vue de dessus d'un dispositif composé de 10 structures tri-couches empilées (10 modules de sang et 11 modules de gaz), et (b) une vue transversale de l'empilement des modules de sang et de gaz. [23]. 29

Figure 1.11. (A) Dispositif microfluidique sous flux sanguin pendant le test d'oxygénation. Le sang veineux entre dans le coin supérieur droit et sort, oxygéné dans le coin inférieur gauche. (B) Une vue transversale en gros plan sur les capillaires sanguins du dispositif sectionné après les tests d'oxygénation. [24]. 31

Figure 1.12. Une vue 3D (a) et une vue de dessus (b) du dispositif. En (c) une image MEB d'une section transversale du dispositif. Le microcanal sanguin est entouré par deux membranes de PDMS renforcées d'une épaisseur de 110 et 25 µm. [25]. 32

Figure 1.13. Représentation d'un oxygénateur en forme de fleur composé de 4 dispositifs connectés en parallèle. [25]. 33

Figure 1.14. Représentation de l'oxygénateur roulé dans un cylindre avec (a) une vue de dessus et (b) une vue transversale du dispositif. [25]. 34

Figure 1.15. Dispositif microfluidique composé de 8 modules de sang connectés en parallèle. Un distributeur de flux à l'entrée à la sortie des modules de sang permet de distribuer et de récupérer uniformément le flux sanguin. [26]. 35

Tableau 1.4. Principales caractéristiques des dispositifs microfluidiques existants à ce jour et présentés dans ce chapitre. La première ligne du tableau en bleu correspond au système clinique actuel Quadrox-i adult. Les paramètres reportés sont la hauteur des capillaires sanguin (H_c), l'épaisseur de la membrane e_m , la chute de pression dans le dispositif, le nombre de structures tri-couches empilées (N_b structures tri-couches), le volume sanguin d'amorçage (V_s), le taux de transfert d'oxygène, la surface

d'échange, le débit sanguin (Q) ainsi que le taux de transfert d'oxygène normalisé à la surface d'échange afin de fournir une meilleure comparaison entre tous les dispositifs..... 37

Figure 2.1. Vue de profil d'une structure tri-couches de l'oxygénateur microfluidique..... 45

Figure 2.2. Vue de dessus de la géométrie du module de sang « modèle I », avec (a) une vue générale et (b) un zoom sur la partie centrale de l'arborescence d'entrée et une partie des capillaires sanguins. Le sang circule dans les zones blanches du dessin..... 47

Figure 2.3. Vue de dessus de la superposition du module de sang et du module de gaz pour la géométrie « modèle I », avec (a) une vue générale et (b) un zoom sur la partie centrale des injecteurs et une partie des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation. Le sang et le gaz d'oxygénation circule dans les zones blanches du dessin. Pour la géométrie modèle I, la géométrie du réseau de microcanaux est la même pour le module de sang et le module de gaz. Lorsque les deux modules sont superposés, on peut voir un réseau dense de microcanaux se superposant en forme de quadrillage qui entoure la membrane. 47

Figure 2.4. Vue de dessus de la géométrie du module de gaz optimisé pour la géométrie du modèle II avec (a) une vue générale et (b) un zoom sur une injection d'entrée du gaz et une partie des microcanaux d'oxygénation. Le gaz d'oxygénation circule dans les zones blanches du dessin. 48

Figure 2.5. Vue de dessus de la superposition du module de sang et du module de gaz optimisé pour la géométrie « modèle II », avec (a) une vue générale et (b) un zoom sur une partie des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation superposés, et une des injections d'entrée du gaz d'oxygénation. Le sang et le gaz d'oxygénation circulent dans les zones blanches du dessin. 48

Figure 2.6. Vue de dessus de la superposition du module de sang et du module de gaz pour la géométrie « modèle III », avec (a) une vue générale et (b) un zoom sur une partie des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation superposés, et une des injections d'entrée du gaz d'oxygénation. On constate la réduction de la largeur du réservoir circulaire du module de sang qui « n'empiète plus » sur les entrées et sorties du gaz d'oxygénation. Le sang et le gaz d'oxygénation circulent dans les zones blanches du dessin. 49

Figure 2.7. Vue de dessus de la géométrie du module de sang de la géométrie « modèle IV », avec (a) une vue générale et (b) un zoom sur la partie centrale de l'arborescence d'entrée et une partie des capillaires sanguins. La largeur des capillaires sanguin est de 400 μm . Le sang circule dans les zones blanches du dessin. 50

Figure 2.8. Dimensions et aspect d'un globule rouge [61]..... 52

Figure 2.9. Représentation de la viscosité dynamique du sang en fonction du taux de cisaillement pour un taux d'hématocrite moyen de 40%. La figure montre l'agrégation des globules rouges à faible taux de cisaillement et la séparation des agrégats à fort taux de cisaillement (d'après Chien et coll. [29]). 53

Figure 2.10. Profil parabolique de la vitesse (flèches bleues) dans un canal cylindrique lors de l'écoulement de Poiseuille.	55
Figure 2.11. Schéma simplifié représentant la circulation sanguine dans le corps humain [37].	57
Figure 2.12. Evolution des pressions sanguines dans les différents vaisseaux du corps humain [36]. ..	58
Figure 2.13. Représentation des 6 niveaux de largeur et de longueur différentes dans la géométrie du modèle III pour le calcul de la résistance hydraulique.	59
Figure 2.14. Couplage en série de deux canaux de résistance hydraulique R_{h1} et R_{h2} . La loi d'additivité des résistances hydrauliques est valable dans la limite des nombres de Reynolds faibles [34].	60
Figure 2.15. Couplage en parallèle de deux canaux de résistance hydraulique R_{h1} et R_{h2} . La loi d'additivité des inverses des résistances hydrauliques est valable dans la limite des nombres de Reynolds faibles [34].	60
Tableau 2.1. Paramètres utilisés pour les calculs numériques de la chute de pression dans le dispositif. Les plages de valeurs des paramètres étudiés sont représentées en gras dans le tableau.	61
Figure 2.16. Variation de la chute de pression ΔP calculée dans le dispositif en fonction du débit sanguin Q , pour 4 hauteurs de capillaires : 35, 85, 105 et 135 μm (a), suivi d'un zoom pour $H = 85, 105$ et 135 μm (b) et pour 4 longueurs de capillaires : 2,5 ; 3,5 ; 4,5 et 5,5 cm (c).	61
Figure 2.17. Vue de profil d'une structure tri-couches de l'oxygénateur microfluidique.	63
Figure 2.18. La répartition des pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone entre le gaz d'oxygénation et le sang [62].	63
Figure 2.19. Composition chimique du polydiméthylsiloxane (PDMS). n étant le nombre de répétitions du monomère.	68
Tableau 2.2. Coefficient de perméabilité à l'oxygène et au dioxyde de carbone pour le PDMS et le PMMA à 25°C [22-24].	68
Tableau 2.3. Paramètres sanguin et expérimentaux théoriques permettant de calculer la solubilité et de la diffusivité efficaces moyennes pour l'oxygène et le dioxyde de carbone diffusant dans le sang à une température de 37°C et un pH de 7,4. Les valeurs de la solubilité et de la diffusivité efficaces moyennes calculées sont données dans le tableau 2.4.	80

Tableau 2.4. Valeurs de la solubilité et de la diffusivité efficaces moyennes pour l'oxygène et le dioxyde de carbone diffusant dans le sang à une température de 37°C et un pH de 7,4, pour les paramètres sanguins et expérimentaux donnés dans le tableau 2.3. 80

Figure 2.20. Schéma d'une coupe transversale de la structure tri-couches avec une représentation simplifiée du phénomène physique de l'échange de gaz. Les paramètres importants pour la simulation d'échange de gaz y sont indiqués..... 81

Tableau 2.5. Paramètres sanguins et expérimentaux utilisés pour les calculs numériques. Les plages des valeurs des paramètres étudiés sont représentées en gras dans le tableau. 86

Figure 2.21. Résultats des calculs numériques avec les variations des pressions partielles en oxygène (ΔP_{O_2}) et en dioxyde de carbone (ΔP_{CO_2}) entre l'entrée et la sortie du dispositif, et la saturation en oxygène en sortie du dispositif ($SatO_2$ en sortie) en fonction du débit sanguin Q , pour différentes épaisseurs de membranes e_m (a), et pour différentes hauteurs de capillaires H (b). Ces valeurs ont été obtenues grâce au modèle mathématique de Potkay [25]..... 87

Figure 2.21(bis). Résultats des calculs numériques avec les variations des pressions partielles en oxygène (ΔP_{O_2}) et en dioxyde de carbone (ΔP_{CO_2}) entre l'entrée et la sortie du dispositif, et la saturation en oxygène en sortie du dispositif ($SatO_2$ en sortie) en fonction du débit sanguin Q , pour différentes surfaces d'échange S_A (c), et pour deux perméabilités de matériau de la membrane P_m : la perméabilité du PDMS et une perméabilité de matériau 10 fois plus élevés que la perméabilité du PDMS (d). Ces valeurs ont été obtenues grâce au modèle mathématique de Potkay [25]..... 88

Figure 2.22. Résultats des calculs numériques avec le taux de transfert d'oxygène entre l'entrée et la sortie du dispositif en fonction du débit sanguin Q , pour différentes épaisseurs de membranes e_m (a), pour différentes hauteurs de capillaires H (b), pour différentes surfaces d'échange S_A (c), et pour deux perméabilités de matériau P_m : la perméabilité du PDMS et une perméabilité de matériau 10 fois plus élevés que la perméabilité du PDMS (d). Ces valeurs de taux de transfert d'oxygène ont été calculé par rapport aux valeurs de variations de pressions partielles en oxygène (ΔP_{O_2}) et de variation de saturation en oxygène ($\Delta SatO_2$) obtenus précédemment grâce au modèle mathématique de Potkay [25]. 89

Figure 2.23. Résultats des calculs numériques avec le taux de transfert de dioxyde de carbone entre l'entrée et la sortie du dispositif en fonction du débit sanguin Q , pour différentes épaisseurs de membranes e_m (a), pour différentes hauteurs de capillaires H (b), pour différentes surfaces d'échange S_A (c), et pour deux perméabilités de matériau de membrane P_m : la perméabilité du PDMS et une perméabilité de matériau 10 fois plus élevés que la perméabilité du PDMS (d). Ces valeurs de taux de transfert de dioxyde de carbone ont été calculé par rapport aux valeurs de variations de pressions partielles en dioxyde de carbone (ΔP_{CO_2}) obtenus précédemment grâce au modèle mathématique de Potkay [25]. 90

Figure 3.1. Etapes de fabrication des moules en utilisant la technique de la photolithographie..... 100

Figure 3.2. Photos du masque de sang (a) et du masque de gaz (b) correspondant à la géométrie du modèle III (modèle le plus récent, voir partie I du chapitre 2). On peut observer que les parties

transparentes des masques correspondent aux motifs des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation.....	102
Figure 3.3. Photo des équipements de photolithographie utilisés au cours de cette thèse : (a) l'équipement de photolithographie MA1006 BSA de l'ESIEE et (b) l'équipement de photolithographie MA6/BA6 du C2N.	103
Figure 3.4. Photos du moule de sang (a) et du moule de gaz (b) réalisés en photolithographie, en utilisant les masques présentés figure 2. La hauteur des motifs ici est de 85 µm.....	103
Figure 3.5. Photos du moule de sang (a) et de gaz (b) réalisé au microscope optique. On peut voir que les microcanaux sont bien définis et que la résine SU-8 entre les motifs est complètement éliminée. A noter que la hauteur des motifs ici est de 85 µm.	104
Figure 3.6. Photo d'une analyse par profilométrie mécanique d'un moule de sang dont la hauteur des motifs est de 85 µm. La partie encadrée en rouge montre la hauteur mesurée des motifs.....	105
Tableau 3.1. Paramètres utilisés en photolithographie pour obtenir les hauteurs de microcanaux suivantes : 35, 85 et 105 µm.	106
Figure 3.7. Réaction de l'agent réticulant et du prépolymère formant le PDMS (Campbell et coll., 1999 [1]).	107
Figure 3.8. Etapes de fabrication d'un module microstructuré de PDMS.....	108
Figure 3.9. Photos d'un module de sang (a) et d'un module de gaz (b) réalisé comme expliqué figure 3.8. Les moules utilisés sont ceux présentés sur la figure 3.4. La hauteur (ou la profondeur) des motifs est de 85 µm.....	108
Figure 3.10. Mécanisme de greffage de silanes sur un substrat en silicium. (a) Premièrement une physisorption, puis (b) l'eau initie une réaction d'hydrolyse conduisant à la formation de groupes silanols Si(OH) ₃ et enfin (c) une réaction de condensation permet un greffage covalent ainsi qu'une réticulation des molécules entre elles [7].	109
Figure 3.11. Calibration de l'épaisseur de la membrane de PDMS en fonction de la vitesse de rotation (pour un temps maintenu à 60 secondes et une accélération de 300 tours/min/s).	110
Figure 3.12. Comparaison des forces d'adhésion des 5 collages les plus connus en microfluidique pour les surfaces PDMS/PDMS (Edding et coll. 2008 [10]).	111
Figure 3.13. Principe du collage de deux surfaces de PDMS en utilisant un collage plasma oxygène : (a) oxydation d'une surface de PDMS par plasma oxygène, générant des fonctions silanols ; (b) condensation de ces fonctions pour former des liaisons covalentes à l'interface PDMS/PDMS [20].112	

Figure 3.14. Epaisseurs des couches en fonction du ratio d'hexane dans le PDMS en masse. L'accélération, la vitesse et la durée de la rotation ont été maintenues constantes à 300 tours/min/s, 3000 tours/min et 30 s, respectivement. 113

Figure 3.15. Les différentes étapes du procédé d'intégration de la membrane entre les deux modules de PDMS microstructurés permettant de former une structure tri-couches. 115

Figure 3.16. A gauche (a), une photo d'une membrane de PDMS réticulé, d'une épaisseur de 15 μm , sur son substrat en silicium. On remarque que l'épaisseur semble homogène et qu'il n'y a aucune poussière ni défaut au sein de la membrane. A droite (b), une photo de la couche de PDMS/hexane, d'une épaisseur d'environ 2 μm , sur son substrat en silicium. La photo est prise sous hotte car l'hexane est un solvant toxique. 116

Figure 3.17. A gauche (a), une photo du module de gaz « tamponné » sur la couche de PDMS/hexane. A droite (b), le module de gaz est mis en contact avec la membrane de PDMS (après avoir été tamponné sur la couche de PDMS/hexane). 116

Figure 3.18. A gauche (a), une photo de l'ensemble « module de gaz + membrane » (en haut) et du module de sang (en bas) qui n'est pas encore intégré à l'ensemble « module de gaz + membrane ». Au milieu (b), une photo du module de sang tamponné sur une couche de PDMS/hexane. Et enfin à droite (c), une photo du module de sang mis en contact avec l'ensemble « module de gaz + membrane » (après avoir été tamponné sur la couche de PDMS/hexane), formant une structure tri-couches. ... 116

Figure 3.19. Image MEB d'une coupe transversale d'une structure tri-couches typique intégrant une membrane de 16 microns d'épaisseur. La hauteur des microcanaux ici est de 35 μm 118

Figure 3.20. Ce dispositif composé d'une seule structure tri-couches montre la première technique d'intégration des connectiques fluidiques : les connectiques pour les entrées et les sorties du sang et du gaz d'oxygénation sont directement intégrées dans les trous percés préalablement dans les modules de PDMS puis fixées à l'aide d'un dépôt, autour de ces connectiques, d'une solution de PDMS préparé avec un ratio prépolymère/réticulant de 5:1 en masse. 118

Figure 3.21. Description des étapes de l'intégration des connectiques fluidiques sur une structure tri-couches. 120

Figure 3.22. A gauche (a), une photo des blocs de PDMS « tamponnés » sur la couche de PDMS/hexane. A droite (b), les blocs de PDMS sont déposés sur l'entrée et les sorties du sang du dispositif (après avoir été tamponné sur la couche de PDMS/hexane). 121

Figure 3.23. A gauche (a), une photo des blocs de PDMS « tamponnés » sur la couche de PDMS/hexane. A droite (b), les blocs de PDMS sont déposés sur les entrées du gaz d'oxygénation du dispositif (après avoir été tamponné sur la couche de PDMS/hexane). 121

Figure 3.24. A gauche (a), Les connectiques fluidiques sont intégrées dans les blocs de PDMS (coté module de sang) puis du PDMS (ratio 1:5) est déposé autour des connectiques pour les fixer. Après une réticulation, à droite (b), les connectiques fluidiques sont intégrées dans les blocs de PDMS (coté module de gaz) puis du PDMS (ratio 1:5) est déposé autour des connectiques pour les fixer. 121

Figure 3.25. Dispositif tri-couches complet avec les connectiques fluidiques à l'entrée et aux sorties du sang (partie supérieure du dispositif) et aux entrées du gaz d'oxygénation (partie inférieure du dispositif). Les connectiques fluidiques sont maintenues par un bloc de PDMS et fixées avec une solution de PDMS d'un ratio prépolymère/réticulant de 5:1 en masse, déposée puis réticulée autour de la connectique. 123

Figure 3.26. Description de la circulation sanguine dans 2 structures tri-couches empilées. A gauche (a), une vue de dessus montrant l'entrée centrale du sang et les 4 sorties en diagonale du sang ; et, à droite (b), une vue en coupe suivant la diagonale jaune permettant de visualiser la circulation du sang dans l'empilement..... 124

Figure 3.27. Description de la circulation du gaz dans 2 structures tri-couches empilées. A gauche (a), une vue de dessus montrant les deux entrées et les deux sorties latérales du gaz ; et, à droite (b), une vue en coupe suivant les flèches bleues permettant de visualiser la circulation de gaz dans l'empilement. 125

Figure 3.28. Etapes du protocole de collage entre plusieurs structures tri-couches..... 126

Figure 3.29. A gauche (a), une photo d'une 1^{ère} structure tri-couches « tamponnées » sur la couche de PDMS/hexane au niveau du module de sang. A droite (b), la 1^{ère} structure tri-couches est immédiatement mise en contact avec la 2^{ème} structure tri-couches au niveau de son module de gaz. 127

Figure 3.30. Dispositif composé de 3 structures tri-couches empilées en parallèle avec (a) une vue de dessus et (b) une vue de côté. On peut voir les entrées et les sorties du gaz d'oxygénation sur la structure la plus haute de l'empilement (a), ainsi que l'entrée et trois des quatre sorties du sang sur la structure la plus basse de l'empilement (b)..... 127

Figure 3.31. Représentation d'une microbille d'un diamètre de 6 µm..... 128

Figure 3.32. Géométrie « test 1 » des microcanaux, utilisée pour les premiers tests fluidiques. Elle est composée de 32 microcanaux d'une largeur de 300 µm et d'une longueur de 2 cm pour une dimension de 5,12 cm²..... 128

Figure 3.33. Module de PDMS microstructuré composé de microcanaux d'une hauteur de 35 µm (géométrie « test 1 »), sous écoulement de microbilles. Les connectiques fluidiques sont des tuyaux en tygon d'un diamètre intérieur de 0,5 mm connectés à des tubes en acier au niveau de l'entrée et de la sortie du module microstructuré. 129

Figure 3.34. Géométrie « test 2 » des microcanaux, utilisée pour la comparaison entre le collage plasma oxygène et le collage humide PDMS/hexane. Elle est composée de 64 microcanaux d'une largeur de 300 μm et d'une longueur de 3 cm pour une dimension de 19,8 cm^2 130

Figure 3.35. Le procédé du collage classique par plasma oxygène permettant de former une structure tri-couches ; avec premièrement une activation de la surface du module 1 et de la membrane (a) ; puis deuxièmement une mise en contact direct entre le module 1 et la membrane suivi d'un recuit à 60°C pendant 1h (b) ; s'ensuit une activation de l'ensemble « module 1 + membrane » et du module 2 (c) ; et enfin une mise en contact direct entre le module 2 et l'ensemble « module 1 + membrane » suivi d'un recuit à 60°C pendant 1h (d). 130

Figure 3.36. Ecoulement fluidique (à une pression de 300 mbar) dans deux structures tri-couches dont la technique de collage est différente : la 1^{ère} structure tri-couches est réalisé avec le collage humide PDMS/hexane (a) ; et la 2^{ème} structure tri-couches est réalisée avec un collage plasma oxygène (b). On remarque l'apparition de fuites dans la 2^{ème} structure tri-couches. 131

Figure 3.37. A gauche (a) une structure tri-couches composée du modèle I sous écoulement de colorant (bleu dans le module 1 et rouge dans le module 2) et à droite (b) un graphique représentant la pression d'injection en fonction du débit. 132

Figure 4.1. Représentation de la veine cave supérieur et du tronc veineux innominé (TVI) [30]. 138

Tableau 4.1. Valeurs de référence des gaz du sang veineux de cochon d'après Bekheit et coll. [24] comparées aux valeurs moyennes de gaz du sang veineux de cochon obtenues lors du 1^{er} protocole de prélèvement du sang 138

Figure 4.2. Représentation du banc expérimental pour la mesure d'oxygénation et de retrait du CO_2 , avec (a) une photo du montage réel et (b) une schématisation pour bien visualiser les différents éléments du circuit. D_S est de débit sanguin et D_G est le débit du gaz d'oxygénation. 139

Figure 4.3. Résultats des expériences d'oxygénation et de retrait du CO_2 en fonction du débit sanguin pour un dispositif sans revêtement et un dispositif avec revêtement albumine-héparine, avec en (a) la variation avec le débit sanguin de ΔPO_2 et en (b) celle de ΔPCO_2 entre l'entrée et la sortie du dispositif, ainsi que (c) la variation avec le débit sanguin de SatO_2 en sortie. On peut également voir une photo d'un dispositif sous flux de sang et d'air pendant l'expérimentation (d). La hauteur des capillaires est fixe à 35 μm , la géométrie est celle du modèle II et le gaz d'oxygénation est de l'air. 143

Figure 4.4. Résultats des expérimentations d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone en fonction du débit sanguin pour deux dispositifs avec des réseaux de capillaires de deux hauteurs différentes $H = 35 \mu\text{m}$ et $H = 85 \mu\text{m}$, avec en (a) la variation avec le débit sanguin de ΔPO_2 et en (b) celle de ΔPCO_2 entre l'entrée et la sortie du dispositif, ainsi que (c) la variation avec le débit sanguin de SatO_2 en sortie. La géométrie utilisée est celle du modèle IV et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur. 145

Figure 4.5. Résultats des expérimentations d'oxygénation et de retrait du dioxyde de carbone en fonction du débit sanguin pour un dispositif dont le gaz d'oxygénation est un mélange d'air/oxygène composé à 50% d'oxygène et 50% d'air (air/O₂ (50%/50%)) et pour un dispositif similaire dont le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur, avec en (a) la variation avec le débit sanguin de ΔPO_2 et en (b) celle de ΔPCO_2 entre l'entrée et la sortie du dispositif, ainsi que (c) la variation avec le débit sanguin de SatO₂ en sortie. La géométrie utilisée est celle du modèle III et la hauteur des capillaires sanguins est de 85 μm . On peut également voir une image extraite d'une vidéo d'un dispositif sous flux de sang et de gaz d'oxygénation pendant l'expérimentation (d) avec un lien pour la visualiser : [dispositif modèle III sous flux de sang et de gaz](#). 147

Figure 4.6. Résultats des expérimentations d'oxygénation et retrait du dioxyde de carbone en fonction du débit sanguin pour un dispositif modèle III et un dispositif modèle IV, avec en (a) la variation avec le débit sanguin de ΔPO_2 et en (b) celle de ΔPCO_2 entre l'entrée et la sortie du dispositif, ainsi que (c) la variation avec le débit sanguin de SatO₂ en sortie. La hauteur des capillaires est fixe à 85 μm et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur. Pour rappel, la surface d'échange du modèle III et du modèle IV est respectivement de 10,71 cm² et 9,66 cm². 149

Tableau 4.2. Valeurs de référence des gaz du sang veineux de cochon d'après Bekheit et coll. [24] comparées aux valeurs de gaz du sang veineux de cochon moyennes obtenues lors du 1^{er} protocole de prélèvement du sang et celles obtenues lors du 2^{eme} protocole de prélèvement du sang. 152

Figure 4.7. Résultats des expérimentations d'oxygénation et de retrait du CO₂ en fonction du débit sanguin Q pour 3 dispositifs avec H = 85 μm et 3 dispositifs avec H = 105 μm , avec en (a) ΔPO_2 , en (b) ΔPCO_2 , en (c) SatO₂ en sortie, en (d) chute de pression ΔP , en (e) le taux de transfert d'oxygène, et en (f) le taux de transfert de dioxyde de carbone en fonction du débit sanguin Q. Chaque point correspond à la moyenne des trois analyses, avec les barres d'erreurs associées. La géométrie utilisée est celle du modèle III et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur. 154

Tableau 4.3. Pour les paramètres de pH, d'hématocrite Hct, de concentration totale en hémoglobine ctHb(g), et de température, ce tableau représente la comparaison des valeurs moyennes mesurées expérimentalement et des valeurs théoriques utilisées pour le calcul numérique du chapitre 2. 158

Tableau 4.4. Paramètres sanguins et expérimentaux utilisés pour le calcul numérique (pour une comparaison avec les valeurs expérimentales présenté figure 4.7). Les plages des valeurs des paramètres étudiés sont représentées en gras dans le tableau. 158

Figure 4.8 Résultats des expérimentations d'oxygénation et de retrait du CO₂ en fonction du débit sanguin Q pour 3 dispositifs avec H = 85 μm et 3 dispositifs avec H = 105 μm , avec en (a) ΔPO_2 , en (b) ΔPCO_2 , en (c) SatO₂ en sortie, en (d) chute de pression ΔP , en (e) le taux de transfert d'oxygène, et en (f) le taux de transfert de dioxyde de carbone en fonction du débit sanguin Q. Chaque point correspond à la moyenne des trois analyses, avec les barres d'erreurs associées. La géométrie utilisée est celle du modèle III et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur. **Les résultats théoriques pour les deux hauteurs de capillaires sont également représentés en pointillés**. 159

Tableau 4.5. Comparaison entre notre dispositif et les oxygénateurs microfluidiques les plus récents et les plus performants à ce jour. Les paramètres reportés sont la hauteur des capillaires sanguin (H_c),

l'épaisseur de la membrane e_m , la chute de pression dans le dispositif, le nombre de structures tri-couches empilées (N_b structures tri-couches), le volume sanguin d'amorçage (V_s), le taux de transfert d'oxygène, la surface d'échange, le débit sanguin (Q) ainsi que le taux de transfert d'oxygène normalisé à la surface d'échange afin de fournir une meilleure comparaison entre tous les dispositifs. Une dernière ligne en bleu expose le potentiel résultat si l'on empile 10 structures tri-couches en parallèle. 162

Figure 4.9. A gauche (a), une photo du dispositif empilé composé de trois structures tri-couches en parallèle, et à droite (b), une représentation d'une vue en coupe du dispositif. L'échange de gaz est unilatéral, c'est-à-dire uniquement à travers la fine membrane de PDMS. 165

Figure 4.10. Résultats des expérimentations d'oxygénation entre un dispositif simple composé d'une seule structure tri-couches et un dispositif empilé composé de trois structures tri-couches. Pour les deux dispositifs, la hauteur des capillaires est de $105 \mu\text{m}$, la géométrie est celle du modèle III et le gaz d'oxygénation est de l'oxygène pur. Il est présenté (a) la variation de la saturation en oxygène entre l'entrée et la sortie du dispositif (ΔSatO_2) ainsi que (b) la chute de pression ΔP en fonction du débit sanguin. 166

Figure 4.11. Une image du contrôleur de pression Fluigent (MFCS™) connecté à un dispositif microfluidique (uniquement partie module de sang) installé à l'intérieur d'un incubateur pendant le test d'endothélialisation des capillaires sanguins. 169

Figure 4.12. Images optiques enregistrées pendant l'endothélialisation dans différentes parties du dispositif à des moments différents notamment après (a) un jour, (b) deux jours, (c) quatre jours, (d) six jours et (e) douze jours, et une image confocale enregistrée après la fixation des cellules (f).... 169

Figure 4.13. Représentation d'une vue en coupe d'un dispositif composé de trois structures tri-couches empilées, si l'on dépose le PDMS par enduction centrifuge sur les moules de sang et de gaz, afin de laisser une faible épaisseur de PDMS (entre 25 et $50 \mu\text{m}$) au-dessus des capillaires sanguins et des microcanaux d'oxygénation. Cela permettrait un échange de gaz bilatéral et donc d'augmenter la surface d'échange d'un facteur 2, sans augmenter la chute de pression..... 172

Figure 2.13. Représentation des 6 niveaux de largeur et de longueur différentes dans la géométrie du modèle III pour le calcul de la résistance hydraulique. 177

Publications

Articles (en cours de révision) :

Lachaux, J., Hwang, G., Arouche, N., ... Haghiri-Gosnet, A-M. (2020). *A compact integrated microfluidic oxygenator with high gas exchange efficiency designed for sustainable endothelialization*. Lab on chip.

Articles :

Habib Geryes, B., Bak, A., Lachaux, J., Ozanne, A., Boddaert, N., Brunelle, F., ... Saliou, G. (2017). *Patient radiation doses and reference levels in pediatric interventional radiology*. European Radiology, 27(9), 3983–3990.

Lachaux, J., Alcaine, C., Gómez-Escoda, B., Perrault, C. M., Duplan, D. O., Wu, P.-Y. J., ... Roy, E. (2017). *Thermoplastic elastomer with advanced hydrophilization and bonding performances for rapid (30 s) and easy molding of microfluidic devices*. Lab on a Chip, 17(15), 2581–2594.

Lachaux, J., Salmon, H., Loisel, F., Arouche, N., Ochoa, I., Fernandez, L. L., ... Roy, E. (2018). *Soft Thermoplastic Elastomer for Easy and Rapid Spin-Coating Fabrication of Microfluidic Devices with High Hydrophilization and Bonding Performances*. Advanced Materials Technologies, 1800308.

Naserian, S., Lachaux, J., Arouche, N., Loisel, F., Hwang, G., Mercier, O., Haghiri-Gosnet, A-M., Uzan, G. (2019). *Development of Bio-Artificial Micro-Vessels with Immunosuppressive Capacities: A Hope for Future Transplantations and Organoids*. Blood, American Society of Hematology, 2019, 134 (Supplement_1), pp.3610-3610.

Conférences :

Présentation d'un poster à la conférence « 3rd microfluidic congress : Europe » à Londres en décembre 2017 : Lachaux, J., Hwang, G., ... Haghiri-Gosnet, A-M. (2017). *Toward the development of transplantable artificial lung based on microfluidic technologies*.

Présentation orale à la conférence « microTAS 2019 » à Bale en Suisse en octobre 2019 : Lachaux, J., Hwang, G., Casari, C., ... Haghiri-Gosnet, A-M. (2019). *A microfluidic oxygenator with large gas exchange surface*.

Brevet :

A-M. Haghiri-Gosnet, Lyas Djeghlaf, Julie Lachaux, Alisier Paris, Gilgueng Hwang. "Microfluidic gas exchange devices and methods for making same", European patent 28620/044WO1 - international filling date 25th October 2019 – PCT 7th May 2020 (PCT/EP2019/079274).