



Etude et développement de méthodes préventives et curatives contre les escarres : détection par réseau de capteur sur textile et traitement par patch d'électrostimulation et iontophorèse

Maxime-Jean Chaudon

► To cite this version:

Maxime-Jean Chaudon. Etude et développement de méthodes préventives et curatives contre les escarres : détection par réseau de capteur sur textile et traitement par patch d'électrostimulation et iontophorèse. Autre. Université de Lyon, 2021. Français. NNT : 2021LYSEM027 . tel-03880867

HAL Id: tel-03880867

<https://theses.hal.science/tel-03880867>

Submitted on 1 Dec 2022

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.

N°d'ordre NNT : 2021LYSEM027

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein de
l'Ecole des Mines de Saint-Etienne

Ecole Doctorale N° 488
Sciences, Ingénierie, Santé

Spécialité de doctorat : MICROELECTRONIQUE

Soutenue publiquement le 18/10/2021, par :
Maxime-Jean CHAUDON

**Étude et développement de méthodes préventives
et curatives contre les escarres : détection par
réseau de capteur sur textile et traitement par
patch d'électrostimulation et iontophorèse**

Devant le jury composé de :

LERMUSIAUX, Patrick Professeur Hospices Civils de Lyon Président du Jury /
Rapporteur

LALLART, Mickael Professeur INSA Lyon Rapporteur
KOTZKI, Sylvain Maître de Conférences INSERM Examineur
AOUFI, Asdin Ingénieur de recherche EMSE Examineur

DJENIZIAN, Thierry Professeur EMSE Directeur de thèse
SAADAOUI, Mohamed Chargé de recherche EMSE Encadrant académique

YAKOUB, Abdel Ingénieur R&D Feeligreen Invité

Spécialités doctorales	Responsables :	Spécialités doctorales	Responsables
SCIENCES ET GENIE DES MATERIAUX MECANIQUE ET INGENIERIE GENIE DES PROCEDES SCIENCES DE LA TERRE SCIENCES ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT	K. Wolski Directeur de recherche S. Drapier, professeur F. Gruy, Maître de recherche B. Guy, Directeur de recherche V.Laforest, Directeur de recherche	MATHEMATIQUES APPLIQUEES INFORMATIQUE SCIENCES DES IMAGES ET DES FORMES GENIE INDUSTRIEL MICROELECTRONIQUE	M. Batton-Hubert O. Boissier, Professeur JC. Pinoli, Professeur N. Absi, Maître de recherche Ph. Lalevée, Professeur

EMSE : Enseignants-chercheurs et chercheurs autorisés à diriger des thèses de doctorat (titulaires d'un doctorat d'Etat ou d'une HDR)

ABSI	Nabil	MR	Génie industriel	CMP
AUGUSTO	Vincent	MR	Génie industriel	CIS
AVRIL	Stéphane	PR	Mécanique et ingénierie	CIS
BADEL	Pierre	PR	Mécanique et ingénierie	CIS
BALBO	Flavien	PR	Informatique	FAYOL
BASSEREAU	Jean-François	PR	Sciences et génie des matériaux	SMS
BATTON-HUBERT	Mireille	PR	Mathématiques appliquées	FAYOL
BEIGBEDER	Michel	MA	Informatique	FAYOL
BILAL	Blayac	DR	Sciences et génie de l'environnement	SPIN
BLAYAC	Sylvain	PR	Microélectronique	CMP
BOISSIER	Olivier	PR	Informatique	FAYOL
BONNEFOY	Olivier	PR	Génie des Procédés	SPIN
BORBELY	Andras	DR	Sciences et génie des matériaux	SMS
BOUCHER	Xavier	PR	Génie Industriel	FAYOL
BRUCHON	Julien	PR	Mécanique et ingénierie	SMS
CAMEIRAO	Ana	PR	Génie des Procédés	SPIN
CHRISTIEN	Frédéric	PR	Science et génie des matériaux	SMS
DAUZERE-PERES	Stéphane	PR	Génie Industriel	CMP
DEBAYLE	Johan	MR	Sciences des Images et des Formes	SPIN
DEGEORGE	Jean-Michel	MA	Génie industriel	Fayol
DELAFOSSÉ	David	PR	Sciences et génie des matériaux	SMS
DELORME	Xavier	PR	Génie industriel	FAYOL
DESRAYAUD	Christophe	PR	Mécanique et ingénierie	SMS
DJENIZIAN	Thierry	PR	Science et génie des matériaux	CMP
BERGER-DOUCE	Sandrine	PR	Sciences de gestion	FAYOL
DRAPIER	Sylvain	PR	Mécanique et ingénierie	SMS
DUTERTRE	Jean-Max	PR	Microélectronique	CMP
EL MRABET	Nadia	MA	Microélectronique	CMP
FAUCHEU	Jenny	MA	Sciences et génie des matériaux	SMS
FAVERGEON	Loïc	MR	Génie des Procédés	SPIN
FEILLET	Dominique	PR	Génie Industriel	CMP
FOREST	Valérie	PR	Génie des Procédés	CIS
FRACZKIEWICZ	Anna	DR	Sciences et génie des matériaux	SMS
GAVET	Yann	MA	Sciences des Images et des Formes	SPIN
GERINGER	Jean	MA	Sciences et génie des matériaux	CIS
GONDRAN	Natacha	MA	Sciences et génie de l'environnement	FAYOL
GONZALEZ FELIU	Jesus	MA	Sciences économiques	FAYOL
GRAILLOT	Didier	DR	Sciences et génie de l'environnement	SPIN
GRIMAUD	Frederic	EC	Génie mathématiques et industriel	FAYOL
GROSSEAU	Philippe	DR	Génie des Procédés	SPIN
GRUY	Frédéric	PR	Génie des Procédés	SPIN
HAN	Woo-Suck	MR	Mécanique et ingénierie	SMS
HERRI	Jean Michel	PR	Génie des Procédés	SPIN
ISMAILOVA	Esma	MC	Microélectronique	CMP
KERMOUCHE	Guillaume	PR	Mécanique et Ingénierie	SMS
KLOCKER	Helmut	DR	Sciences et génie des matériaux	SMS
LAFOREST	Valérie	DR	Sciences et génie de l'environnement	FAYOL
LERICHE	Rodolphe	DR	Mécanique et ingénierie	FAYOL
LIOTIER	Pierre-Jacques	MA	Mécanique et ingénierie	SMS
MEDINI	Khaled	EC	Sciences et génie de l'environnement	FAYOL
MOLIMARD	Jérôme	PR	Mécanique et ingénierie	CIS
MOULIN	Nicolas	MA	Mécanique et ingénierie	SMS
MOUTTE	Jacques	MR	Génie des Procédés	SPIN
NAVARRO	Laurent	MR	Mécanique et ingénierie	CIS
NEUBERT	Gilles	PR	Génie industriel	FAYOL
NIKOLOVSKI	Jean-Pierre	Ingénieur de recherche	Mécanique et ingénierie	CMP
O CONNOR	Rodney Philip	PR	Microélectronique	CMP
PICARD	Gauthier	PR	Informatique	FAYOL
PINOLI	Jean Charles	PR	Sciences des Images et des Formes	SPIN
POURCHEZ	Jérémy	DR	Génie des Procédés	CIS
ROUSSY	Agnès	MA	Microélectronique	CMP
SANAUR	Sébastien	MA	Microélectronique	CMP
SERRIS	Eric	IRD	Génie des Procédés	FAYOL
STOLARZ	Jacques	CR	Sciences et génie des matériaux	SMS
VALDIVIESO	François	PR	Sciences et génie des matériaux	SMS
VIRICELLE	Jean Paul	DR	Génie des Procédés	SPIN
WOLSKI	Krzystof	DR	Sciences et génie des matériaux	SMS
XIE	Xiaolan	PR	Génie industriel	CIS
YUGMA	Gallian	MR	Génie industriel	CMP

A mes grands-parents

REMERCIEMENTS

Ces travaux de recherche s'inscrivent dans le cadre d'une thèse CIFRE, convention signée entre la société Feeligreen, basée à Valbonne et le département d'Électronique Flexible de l'École des Mines de Saint-Etienne.

Je dédie, tout d'abord, ces travaux aux trois femmes de ma vie : Malika, mon épouse, Roseline, ma maman et Ségolène, ma sœur chérie. Elles m'ont soutenu, encouragé et aidé pendant cet éprouvant marathon. Elles ont toujours cru en moi et su me parler pour me dépasser. Sans elles, tout ce travail accompli aurait été bien plus difficile, voire impossible.

Cette thèse est le résultat de recherches couvrant plusieurs disciplines. Nombreuses sont donc les personnes qui sont intervenues et que j'aimerais vivement remercier.

Je tiens, tout d'abord, à remercier Christophe Bianchi, fondateur de Feeligreen, pour avoir souhaité ardemment que je travaille sur ce sujet, qui était pour lui, très sensible. Il a été très accessible et nos échanges techniques ont été fructueux. Il a su m'insuffler d'excellentes idées et de très bons conseils.

Je remercie, également, Monsieur le Professeur Thierry Djenizian pour avoir accepté d'être mon directeur de thèse.

Je remercie les membres du Jury pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ces travaux de recherche.

Je tiens à remercier Mickael Lallart, Professeur de l'Institut National des sciences appliquées (INSA) de Lyon et Patrick Lermusiaux, Professeur des Hospices Civiles de Lyon pour avoir accepté d'en être les rapporteurs.

Je tiens à remercier, aussi, mes encadrants tant d'entreprise, qu'académique.

Abdel Yakoub, roi de l'Impression, a toujours été extrêmement disponible, très serviable. J'ai apprécié son optimisme. Nos pauses café du matin, pendant lesquelles nous analysions les résultats des différents championnats européens ou encore des matches de Ligue des Champions, ont été, pour moi, de véritables bouffées d'air pur.

Je remercie, Mohamed Saadaoui, mon encadrant académique pour son aide, la finesse de son raisonnement, la pertinence de son analyse physique notamment sur les données d'impédance. Il a toujours été très à l'écoute et patient.

Asdin Aoufi, ingénieur de recherche CNRS, s'est montré, lui aussi, bienveillant avec moi, extrêmement compétent et son soutien fut très précieux, dans la mise au point du programme MATLAB de traitement de données. J'ai apprécié son immense disponibilité au cours de nos longues soirées MATLAB pendant le confinement.

Je tiens à témoigner chaleureusement ma reconnaissance à Monsieur le Professeur Jean-Luc Cracowski, officiant au sein du laboratoire Hypoxie et Physiopathologies cardiovasculaires et respiratoires (hp2) qui a accepté de m'accueillir au sein de son équipe. Ainsi ai-je pu mener à bien mon étude expérimentale.

J'ai placé une confiance absolue en Sylvain Kotzki, Maître de Conférences au sein également de l'Université Grenoble-Alpes, qui a été très pédagogue, tout au long de la mise en place des manipulations *in vivo* et pendant l'analyse des résultats. Son immense culture scientifique, sa faculté de comprendre et d'appréhender rapidement les problématiques, sous-jacentes scientifiques, ont été des avantages indispensables quant à l'aboutissement de nos travaux de recherche.

Axel Couturier et Raphael Bouvet se sont montrés d'une disponibilité permanente avant et pendant les expérimentations sur animaux. Leur participation, leurs nombreux encouragements et leurs conseils se sont avérés très précieux et cruciaux dans la réussite de cette étude.

Tous les membres de l'équipe de doctorants du département hp2 se sont montrés, au plus haut point, accueillants. Qu'ils en soient vivement remerciés !

Je tiens à adresser, à l'ensemble des membres de la société Feeligreen, l'expression de ma vive gratitude. Je remercie très chaleureusement Oana Hulea pour son aide précieuse et son grand professionnalisme pendant la phase d'expérimentation *in vitro*. Je suis très reconnaissant envers François Zana, Julien Mauran et Julien Piasecki pour leurs conseils et leurs remarques judicieuses sur la partie électronique. Je remercie également Monia Soltani pour le soutien et la patience dont elle a fait preuve à mon endroit et sa grande disponibilité, Delphine Raymond, Sandrine Haller et Stéphane Rainaut pour leurs encouragements.

Je souhaite exprimer toute ma gratitude envers Jean Reo, ingénieur mécanicien, pour sa bienveillance, sa gaieté et sa disponibilité. Il a toujours su se montrer serviable au cours des années passées à travailler à ces côtés.

Je remercie chaleureusement Monsieur le Professeur Christophe Desrayaud, Directeur de l'École Doctorale EDSIS. 488, Fanny Aubrun et Nabila Halima-Meddah, assistantes administratives, pour leur disponibilité et leur aide pendant la soumission du manuscrit.

Je tiens à remercier Gracien Counot, Technicien informatique, pour sa gentillesse, son aide et sa disponibilité (encore merci pour le jour de la soutenance !) et Véronique Villareal, Assistante de direction.

Enfin, je remercie le groupe SEB et plus particulièrement Kaori Ikeda et Baptiste Bonnemaire pour s'être montrés très compréhensifs et à l'écoute pendant la dernière ligne droite avant la soutenance.

TABLE DES MATIERES

Introduction générale.....	1
-----------------------------------	----------

Chapitre 1 : Prévention, détection et traitement des escarres : état de l’art et objectifs de la thèse.....	5
--	----------

1.	Introduction.....	7
2.	Les escarres.....	8
2.1.	Etiologie et physiopathologie.....	9
2.2.	Diagnostic et évaluation des risques.....	20
2.3.	Méthodes de prise en charge et traitements.....	21
3.	Technologie de capteurs de pression grande surface pour la prévention des escarres...	29
3.1.	Capteurs piézorésistifs.....	30
3.2.	Capteurs capacitifs.....	31
3.3.	Capteurs piézoélectriques.....	32
4.	Détection d’escarres.....	33
4.1.	Méthodes de caractérisation des tissus biologiques.....	34
4.1.1.	Les ultrasons.....	34
4.1.2.	La propagation micro-onde.....	36
4.1.3.	La spectroscopie proche infrarouge.....	37
4.1.4.	La spectroscopie par bioimpédance.....	39
5.	Traitement des escarres.....	56
5.1.	Diffusion d’actifs dans la peau.....	56
5.2.	Méthodes d’administration d’actifs dans la peau.....	61

5.2.1. Iontophorèse et électroporation.....	61
5.2.2. Sonophorèse.....	62
5.2.3. Microaiguilles.....	63
6. Résumé et objectifs de la thèse.....	64
Références.....	66

Chapitre 2 : Développement d'une matrice grande surface de capteurs de pression.....85

1. Introduction.....	87
2. Architecture du capteur.....	88
3. Développement des capteurs piézorésistifs sur substrat flexible.....	91
3.1. Procédé de fabrication.....	91
3.2. Méthodes de caractérisation électromécanique des capteurs.....	95
3.3. Analyse des performances des capteurs.....	98
4. Conception et fabrication d'une matrice grande surface de capteurs.....	112
4.1. Conception et validation de l'architecture.....	112
4.2. Calibration et caractérisation de la matrice de capteur.....	114
4.3. Système électronique pour la lecture et le traitement des données de pression.....	115
5. Conclusion.....	118
Références.....	120

Chapitre 3 : Détection d'escarres et suivi d'évolution par spectroscopie d'impédance...123

1. La bioimpédance dans la physiologie cutanée.....	125
1.1. Introduction.....	125
1.2. Les modèles électriques de conduction et leur limite.....	128
1.3. La corrélation entre les propriétés biologiques des tissus et la bioimpédance..	143
2. La spectroscopie d'impédance : généralités et mise en pratique.....	149
2.1. Stratégie adoptée.....	149
2.2. Mesure d'impédance et instrumentation.....	151
2.3. Fabrication et test d'électrodes conformables adaptées à la caractérisation de tissus vivants.....	155

3.	Mise en évidence de l'ulcère de pression sur tissu murin par bioimpédance.....	167
3.1.	Modèle murin de l'ulcère de pression.....	167
3.2.	Protocole expérimental.....	169
3.3.	Analyse des résultats et discussion.....	175
4.	Conclusion et perspectives.....	198
	Références.....	202

Chapitre 4 : Mise en place d'une iontophorèse à visée thérapeutique pour le traitement de l'escarre.....209

1.	Introduction.....	211
2.	L'iontophorèse.....	211
2.1.	Les différents mécanismes de transport impliqués dans l'iontophorèse.....	212
2.2.	Les divers paramètres influençant le transport iontophorétique.....	216
2.2.1.	La densité de courant.....	216
2.2.2.	Le pH.....	216
2.2.3.	La concentration en molécule active.....	217
2.3.	L'iontophorèse à visée thérapeutique : avantages et limites dans la cicatrisation cutanée.....	218
3.	Etudes in vitro de la diffusion de molécules actives par iontophorèse.....	220
3.1.	Intérêt d'une étude <i>in vitro</i>	220
3.2.	Matériel mise en place et méthodes utilisées.....	220
3.2.1.	La tolazoline comme molécule active pour les tests de diffusion.....	220
3.2.2.	Le banc de diffusion.....	221
3.2.3.	Les électrodes Ag/AgCl couvertes de carbone.....	226
3.2.4.	La cellule de Franz.....	227
3.2.5.	Protocoles.....	228
3.2.6.	Méthode de dosage de la tolazoline.....	232
3.3.	Analyse des résultats et discussion.....	235
4.	Etude préliminaire de diffusion in vivo du tréprostnil.....	248
4.1.	Le tréprostnil promoteur de cicatrisation de plaies.....	248
4.2.	Matériel mise en place et méthodes utilisées.....	248

4.3.	Analyse des résultats et discussion.....	251
5.	Conclusion.....	255
	Références.....	257
	Conclusion Générale.....	261
	Annexes.....	267

INTRODUCTION GENERALE

L'escarre est une nécrose chronique de la peau qui apparaît à la suite de l'arrêt de la vascularisation d'une zone cutanée. Les tissus mous se trouvent comprimés entre une saillie osseuse et un support dur provoquant une diminution de l'irrigation sanguine et intrinsèquement des nécroses. Il existe différents degrés de gravité allant du stade I, caractérisé par une décoloration de la peau et/ou une modification de la texture des tissus superficiels, au stade IV où de graves lésions cutanées et tissulaires sont observées et les os sous-jacents peuvent être visibles. Ceci entraîne un accroissement du risque d'amputation et de mortalité. En outre, ce type de plaie chronique se développe quand une personne reste alitée ou dans un fauteuil ou encore un fauteuil roulant pour une longue durée.

Cette pathologie très répandue entraîne un risque important pour la santé publique et l'économie. En effet, les escarres sont des plaies chroniques avec un taux de mortalité élevé et touchent en moyenne 10% des patients hospitalisés en Europe. En France uniquement, environ 3,35 milliards d'euros sont consacrés chaque année au traitement des plaies cutanées. Dans cette perspective, le développement de méthodes non invasives de prévention et de détection précoce des escarres apparaît crucial.

C'est donc dans ce contexte que s'inscrivent ces travaux de thèse. L'objectif global de ce travail a été de proposer une solution complète permettant la prévention, la détection prématurée et le traitement des ulcères de pression sous la forme d'une matrice de capteurs de pression peu coûteuse et flexible ainsi qu'un patch transdermique pour la détection précoce par caractérisation électrique des tissus et le traitement des escarres via l'administration par iontophorèse d'un vasodilatateur.

Le premier chapitre se concentre, dans un premier temps, sur l'étiologie et la physiopathologie des ulcères de pression afin de mieux appréhender les enjeux de ces travaux de thèse. Dans un second temps, sont présentées les différentes méthodes de prévention des escarres, de caractérisation de tissus biologiques et d'administration de médicaments.

Le deuxième chapitre de ce manuscrit présente le travail autour du développement d'une matrice grande surface de capteurs capables de mesurer en temps réel une pression d'interface. En effet, le but est de pouvoir alerter le personnel hospitalier lorsqu'une zone du corps d'un patient alité par exemple est exposée à un seuil de pression pendant une durée importante. Le mécanisme de transduction choisi est la piezorésistivité, se traduisant par une diminution de la

résistivité lorsque la contrainte mécanique augmente. Le but est ici de développer une matrice de capteurs flexibles et conformables. Ces derniers ont été créés par dépôt de diverses encres métalliques à base de particules d'Ag et d'AgCl et d'une encre spécifique piezorésistive sur des divers substrats flexibles en polytéréphtalate d'éthylène (PET) ou en polyuréthane (PU). La technologie d'impression utilisée est la sérigraphie. Un *Design of Experiment* a été développé afin de caractériser la réponse du capteur en fonction différents caractéristiques de sa conception. Chacun des capteurs est soumis à une contrainte mécanique grâce à un banc de caractérisation composé d'un actionneur et d'un dynamomètre permettant de mesurer la force appliquée. Le capteur flexible caractérisé est connecté à une carte électronique permettant de mesurer les variations de résistance aux bornes de ce dernier. Les données sont enregistrées à l'aide d'une interface graphique. Une fois ce design sélectionné, une matrice a été réalisée. Une carte électronique permet de scanner chaque sous capteur de la matrice ; une interface graphique se chargeant d'afficher en temps réel les différentes pressions.

Le troisième chapitre de ce manuscrit s'attarde sur la mesure de bioimpédance permettant la caractérisation électrique des tissus vivants. L'idée sous-jacente est de pouvoir se servir de cette mesure comme détecteur de lésion de pression. Ces mesures sont réalisées à l'aide d'électrodes flexibles connectées à un impédancemètre pour permettre une mesure plus précise et une meilleure adhérence. Pour cela, une première étude *in vitro* a été menée sur une peau excisée d'oreille de cochon. Cette peau a été soumise à une contrainte mécanique à l'aide d'un actionneur. L'impédance a, d'abord, été mesurée sur cette peau saine servant de référence puis sur la peau endommagée. Ceci a permis de mieux appréhender la différence d'impédance entre tissu sain et tissu abîmé. Fort de cette expérience, une étude *in vivo* a été mise en place sur des souris pour permettre de travailler sur des tissus vivants indispensables pour l'induction des lésions de pression. Le modèle d'ulcère plébiscité est un modèle d'ischémie reperfusion développé dans le cadre des travaux de thèse à l'Université Lyon I. Deux ulcères de pression sont ainsi obtenus par animaux. Ces derniers ont été au préalable rasés. Une première mesure d'impédance est faite sur tissus sains à l'aide d'électrodes flexibles connectées à un impédancemètre. Les deux escarres sont ensuite induites. Une caractérisation électrique des tissus de cette plaie est effectuée toute de suite après, puis 1h et 3h après. Ensuite, une mesure est effectuée une fois par jour sur chaque animal afin de suivre l'état de cicatrisation des lésions de pression. Le but est d'essayer de corréler l'état de la plaie à un instant t de sa cicatrisation et les données électriques correspondantes.

Le quatrième et dernier chapitre de ce travail de thèse porte sur la preuve de concept visant à tester la pertinence de l'iontophorèse comme technique d'administration de médicaments visant à favoriser la cicatrisation de l'escarre. Deux vasodilatateurs ont été sélectionnés : la tolazoline et le tréprostinil. La première de ces molécules, choisie notamment pour des questions de coût, a été testée *in vitro* sur peau d'oreilles de cochon excisée montée sur cellule de Franz. Deux réservoirs ont été privilégiés pendant cette étude : le gel et le non-tissé permettant une application sur des électrodes flexibles. Ces dernières sont connectées à un banc de diffusion électronique développée au sein de la société Feeligreen permettant de paramétrer à façon les courants iontophorétiques. L'efficacité de plusieurs types de courant a été évaluée afin d'optimiser notamment la durée du traitement afin d'obtenir une efficacité maximale en 20 minutes. Le tréprostinil est testé sur des rats dans le cadre d'un partenariat avec l'INSERM de

Grenoble. Cette étude *in vivo* confronte, dans un premier temps, le banc de diffusion électronique et la solution proposée par Perimed. Pour évaluer l'efficacité du traitement une mesure de flux sanguin par Laser Doppler avant et après le traitement est effectuée. Ensuite, diverses caractéristiques associées aux courants sont comparées au travers de la réponse vasculaire comme la densité de courant ou encore le rapport cyclique pour les courants pulsés. Le but est toujours d'offrir la meilleure vasodilatation sur un temps le plus court possible.

Chapitre 1

Prévention, détection et traitement des escarres : état de l'art et objectifs de la thèse

1. Introduction	7
2. Les escarres	8
2.1. Etiologie et physiopathologie	9
2.2. Diagnostic et évaluation des risques	20
2.3. Méthodes de prise en charge et traitements	21
3. Technologie de capteurs de pression grande surface pour la prévention des escarres..	29
3.1. Capteurs piézorésistifs	30
3.2. Capteurs capacitifs	31
3.3. Capteurs piézoélectriques	32
4. Détection d'escarres	33
4.1. Méthodes de caractérisation des tissus biologiques	34
4.1.1. Les ultrasons	34
4.1.2. La propagation micro-onde.....	36
4.1.3. La spectroscopie proche infrarouge.....	37
4.1.4. La spectroscopie par bioimpédance.....	39
5. Traitement des escarres	56
5.1. Diffusion d'actifs dans la peau.....	56
5.2. Méthodes d'administration d'actifs dans la peau.....	61
5.2.1. Iontophorèse et électroporation	61
5.2.2. Sonophorèse.....	62
5.2.3. Microaiguilles.....	63
6. Résumé et objectifs de la thèse.....	64
Références.....	66

1. Introduction

Une plaie chronique désigne soit une plaie n'ayant pas cicatrisé en temps voulu (dans un délai de trois mois) et de manière ordonnée pour reproduire une intégrité fonctionnelle et anatomique, soit une plaie qui a cicatrisé mais dont le résultat anatomique et fonctionnel n'est pas durable [1]. La « *Wound Healing Society* » classe les plaies chroniques, en se basant sur des causes étiologiques, en quatre catégories : ulcère de pression, veineux, diabétique et d'insuffisance artérielle [2]. Les plaies chroniques représentent une « épidémie silencieuse » qui affecte une fraction importante de la population mondiale [3]. Les personnes âgées constituent le groupe le plus à risque de la population face aux plaies chroniques étant donnée le ralentissement de la cicatrisation des plaies avec l'âge [4]. En outre, les conséquences des maladies cardiovasculaires et des diabètes s'amplifient également avec l'âge augmentant d'autant plus le risque de développer des plaies chroniques. Cette pathologie constitue une menace majeure et croissante pour la santé publique et l'économie. En effet, les coûts de traitement de telles plaies sont substantiels et estimés à environ 1 à 3 % du total des dépenses de santé dans les pays développés [5]. Aux États-Unis d'Amérique, les plaies chroniques affectent entre 2,4 et 4,5 millions de patients par an [6]. En France, l'assurance maladie indique que la prise en charge des plaies chroniques s'élevait à 965 millions d'euros en 2011 (Améliorer la qualité du système de santé et maîtriser les dépenses : propositions de l'Assurance Maladie pour 2014). Ainsi, la prévention, la réduction des durées de cicatrisation et des récurrences sont des enjeux majeurs afin de conserver la qualité de vie des patients.

De nos jours, l'accroissement de l'espérance de vie, contribue au vieillissement de la population et à l'augmentation de la prévalence des maladies chroniques [7]. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la population mondiale âgée de plus de 65 ans sera plus importante que celle des moins de 14 ans [8]. Cette tendance a un impact direct sur la structure socio-économique de notre société avec une augmentation des dépenses médicales et des besoins en matière de bien-être social et de santé. Ces bouleversements sociétaux ont permis de nouvelles avancées technologiques afin d'améliorer le système de santé d'actuel [9]. L'engouement autour des dispositifs électroniques portables associés à des systèmes de détection flexible (capteurs) a favorisé le développement de systèmes de surveillance et de diagnostic intelligents en temps réel. L'objectif étant d'améliorer la qualité de vie des citoyens en proposant des outils de prise en charge et de suivi médical. De nombreux dispositifs médicaux sont en cours de développement pour permettre le suivi de l'état de santé de patients à distance [10]. Ils permettent de suivre et d'analyser la variabilité du rythme cardiaque [11], de surveiller le taux de glucose dans le sang et de détecter les diabètes sucrés [12], de mesurer le pH de la peau [13] ou encore de détecter prématurément les ulcères de pression même si ces derniers ne sont pas visibles [14].

Dans ce contexte, et afin de mieux appréhender les enjeux de ces travaux de thèse, ce chapitre se concentre, dans un premier temps, sur l'étiologie et la physiopathologie des lésions de pression (stades, facteurs aggravants), leurs diagnostics et l'évaluation des risques et les différentes méthodes de prise en charge et de traitements. Ensuite, nous évoquerons les différentes technologies de capteurs de pression sur grande surface pour la prévention des escarres. Différentes méthodes de caractérisation de tissus biologiques seront, par la suite,

présentées : ultrasons, propagation micro-onde, spectroscopie proche infrarouge et par bioimpédance. Enfin, les différents mécanismes physiques améliorant l'administration de médicaments seront décrits.

2. Les escarres

L'escarre est une lésion ischémique (diminution de l'afflux sanguin) localisée au niveau de la peau et/ou des tissus sous-jacents, située en général sur une saillie osseuse. Elle est le résultat d'un phénomène de pression, ou de pression associée à du cisaillement.

Lorsqu'une pression externe s'exerce sur la peau, les micro-vaisseaux embarqués dans le derme peuvent subir des déformations non affines. L'occlusion de ces micro-vaisseaux provoque, localement, une ischémie et un œdème commençant généralement dans les tissus profonds puis s'étendant dans les couches superficielles de la peau [15]. L'ischémie provoque une augmentation de l'activation des leucocytes ainsi que des niveaux élevés d'inflammation [16]. En outre, les conditions hypoxiques dans les lésions de pression engendrent un accroissement de la mort cellulaire [17] et de la libération de métabolites toxiques comme l'interleukine IL-6 [18]. Cette dernière peut entraîner la stimulation de neutrophiles et de macrophages libérant davantage de cytokines pro-inflammatoires comme le facteur de nécrose tissulaire alpha (TNF α), entretenant le cycle inflammatoire [19].

L'escarre touche les personnes alitées et/ou immobiles. Le personnel hospitalier doit venir régulièrement bouger ces patients selon un processus médical [20] afin d'éviter le développement des ulcères de pression. Cependant, ce type de prévention peut exposer les patients à de nombreux cycles d'ischémie reperfusion [21].

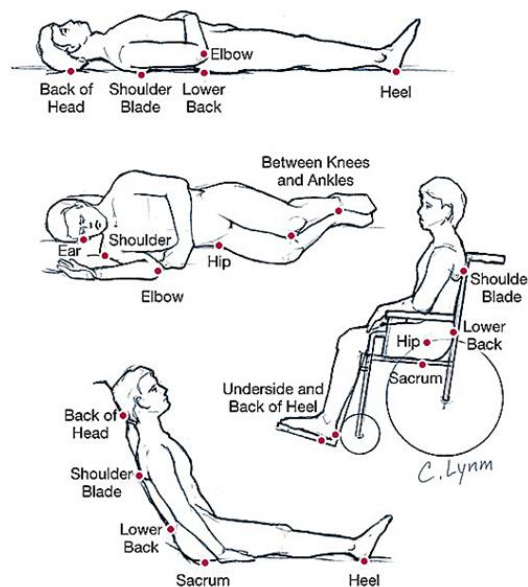


Figure 1 : Principales localisations des escarres en fonction de la station du patient [22]

Les zones du corps du patient les plus exposées à la pression dépendent de la position de ce dernier : assis ou allongé. Les plaies chroniques se développent généralement au niveau du sacrum (coccyx), du dos, des fesses, des talons, de l'arrière de la tête et des coudes (Figure 1).

2.1. Étiologie et physiopathologie

La plaie de pression est définie par le « *National Pressure Injury Advisory Panel* » (NPIAP) comme suit :

“A pressure injury is localized damage to the skin and underlying soft tissue usually over a bony prominence or related to a medical or other device. The injury can present as intact skin or an open ulcer and may be painful. The injury occurs as a result of intense and/or prolonged pressure or pressure in combination with shear. The tolerance of soft tissue for pressure and shear may also be affected by microclimate, nutrition, perfusion, comorbid conditions, and condition of the soft tissue.” [23]

Un ulcère de pression est, ainsi, une plaie localisée de la peau et des tissus mous sous-jacents, se trouvant généralement près d'une proéminence osseuse ou provoquée par un dispositif médical ou autre. Cette lésion est la conséquence d'une exposition à une pression intense et/ou prolongée associée à un cisaillement. La blessure peut ne pas être visible en surface ou être un ulcère ouvert et peut être très douloureuse.

Aux États-Unis, les lésions de pression sont classifiées en 4 grades depuis 1988 par la « *Wound Ostomy and Continence Nurses Society* » [24]. Cette classification repose sur les travaux de J. D. Shea en 1975 [25]. En 1989, le NPIAP a développé un système de classification des stades pour les lésions de pression en utilisant un modèle de conférence consensuel. Ce système a subi plusieurs révisions jusqu'en 2007 où il a été question d'ajouter la suspicion de lésions dans les tissus profonds (« *Deep Tissue Injury* »). En 2009, les premières lignes directrices internationales pour le traitement et la prévention des ulcères de pression (« *NPIAP-EPUAP* » (« *European Pressure Ulcer Advisory Panel* ») *International Pressure Ulcer Prevention and Treatment Guidelines* ») ont modifié le système de stades pour un usage international en ajoutant le terme catégorie/stade, qui est très souvent utilisé en dehors des États-Unis. En 2014, un accord entre le PPPIA (« *Pan Pacific pressure injury alliance* »), l'EPUAP, et le NPIAP a permis d'établir une classification internationale des ulcères de pression. Finalement, en 2016, le système de stades des lésions de pression se met à utiliser le terme de blessure plutôt qu'ulcère [23].

Avant de présenter la classification mise en place pour les lésions de pression, intéressons-nous, succinctement, à la cicatrisation de plaies.

Ce processus s'enclenche dès que la continuité de la barrière cutanée est rompue. Il s'agit d'un mécanisme borné dans le temps faisant intervenir plusieurs types de cellule et différents marqueurs. Ces cellules et marqueurs interviennent à des temps très spécifiques au cours de la cicatrisation.

Le but de cette dernière est de reformer la peau afin d'éviter toute infection [26]. De plus, l'intégrité structurelle de la peau n'est jamais recouverte complètement avec la formation d'une cicatrice [27].

La cicatrisation se déroule en quatre phases (Figure 2) : l'homéostasie, l'inflammation, la prolifération et le remodelage [28].

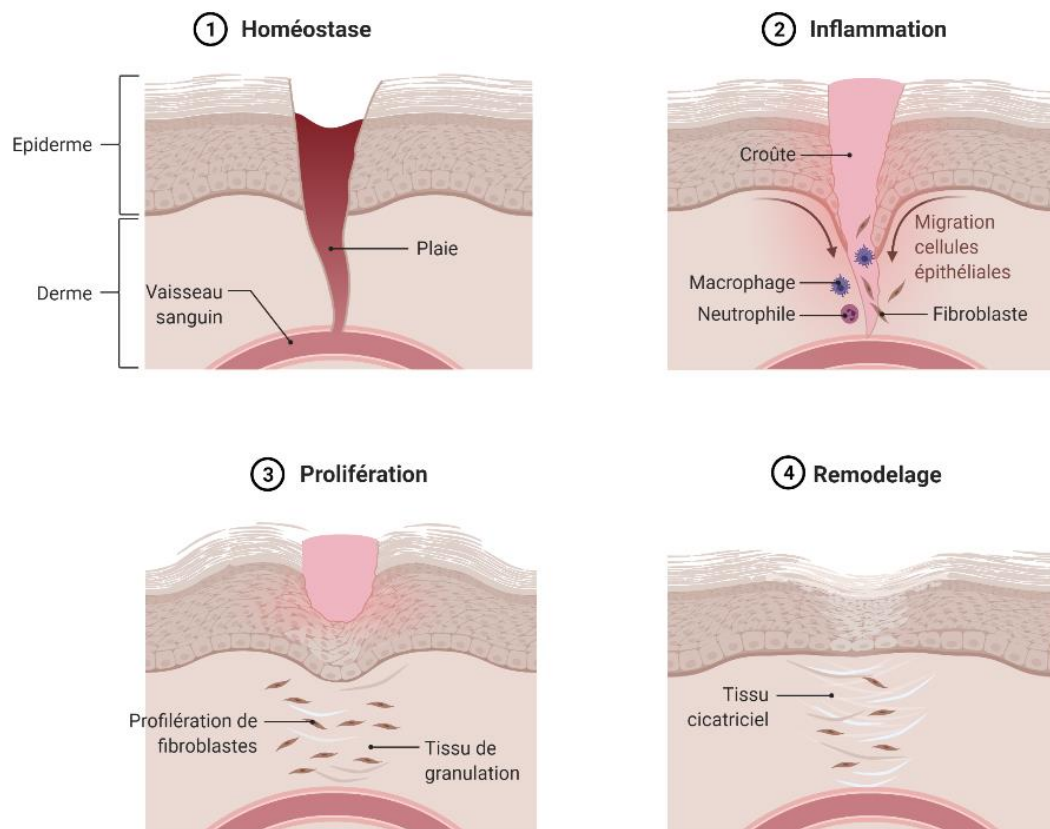


Figure 2 : Les différentes phases de la cicatrisation cutanée (Adapté de « Wound healing », par BioRender.com (2021))

Ces dernières doivent se produire dans une séquence appropriée et à un moment précis. Elles se chevauchent, également, dans le temps (Tableau 1).

Tableau 1 (Adapté de [29])

Phase	Événements cellulaires et physiologiques
Homéostasie	1. Constriction vasculaire 2. Agrégation de plaquettes, dégranulation, et formation de fibrine (thrombus)
Inflammation	1. Infiltration de neutrophiles 2. Infiltration de monocytes et différenciation en macrophages 3. Infiltration de lymphocytes
Prolifération	1. Ré-épithélialisation 2. Angiogénèse 3. Synthèse de collagène 4. Formation de la matrice extracellulaire
Remodelage	1. Remodelage du collagène 2. Maturation et régression vasculaire

La cicatrisation est un processus dynamique composé de quatre phases continues, se chevauchant et qui sont programmés avec précision. Chacun des événements impliqués dans la cicatrisation doit se dérouler de manière précise et régulée. Toute perturbation, retard ou prolongation du processus peut engendrer un retard de cicatrisation ou une plaie chronique ne cicatrisant pas.

Chez l'Homme adulte, les événements suivants sont impliqués au cours d'une cicatrisation optimale : une homéostasie rapide, une inflammation contenue, une différenciation, une prolifération et une migration de cellules mésenchymateuses, une angiogénèse, une ré-épithélialisation rapide et enfin une synthèse, une réticulation et un alignement appropriés du collagène pour renforcer le tissu en cours de cicatrisation [30]. Les monocytes, dans le milieu tissulaire, se différencient en macrophages. Ils jouent, également un rôle anti-infectieux étant donné leurs capacités de phagocyte. Ils produisent surtout des cytokines pro-inflammatoires et des facteurs de croissance. Ces protéines sont cruciales dans la prolifération des fibroblastes et la production de collagène. La formation de tissu de granulation est aussi amplifiée.

La première phase de l'homéostasie débute dès l'induction de la blessure. Une constriction vasculaire se développe et un caillot de fibrine apparaît. Ce caillot et les tissus environnants entraînent la libération de cytokines proinflammatoires ainsi que des facteurs de croissance comme le facteur de croissance dérivé des plaquettes (« *Platelet-Derived Growth Factor* » PDGF) ou celui épidermique (« *Epidermal Growth Factor* » EGF).

Lorsque l'hémorragie est sous contrôle, les cellules inflammatoires migrent dans la plaie. Séquentiellement, apparaissent alors des neutrophiles, des macrophages et des lymphocytes [31]. Les neutrophiles et les macrophages permettent entre autres d'éliminer les divers microbes qui envahissent la plaie ainsi que les débris cellulaires par l'intermédiaire de leurs enzymes et la production de radicaux libres. La plaie va être détergée.

A la suite de cette vasoconstriction rapide responsable de l'homéostasie, une vasodilatation se met en place afin de permettre aux cellules d'affluer au niveau de la plaie. On entre dans la phase inflammatoire de la cicatrisation. Les polynucléaires neutrophiles sont les premiers leucocytes apparaissant dans la plaie. Ils favorisent la pénétration des cellules dans la plaie en libérant des enzymes et des collagènes [32]. En outre, ils permettent une détersion locale des lésions et ont un rôle anti infectieux locale. Ils sont ensuite phagocytés par les macrophages qui se trouvent dans la plaie. Ces cellules polynucléaires produisent également des cytokines pro-inflammatoires. Ces dernières participent au recrutement et à la prolifération de fibroblastes et des kératinocytes.

Au bout de trois jours après l'apparition de la plaie, les macrophages prédominent et sont supérieurs en nombre par rapport aux polynucléaires neutrophiles [33]. Au bout d'une semaine, les fibroblastes tendent à remplacer les cellules inflammatoires.

La phase de prolifération cellulaire suit et chevauche, généralement, la phase inflammatoire. Cette phase se caractérise par la prolifération et la migration épithéliales sur la matrice provisoire à l'intérieur de la plaie (ré-épithélialisation). Au sein du derme, les fibroblastes et les cellules endothéliales sont les cellules principalement présentes. Ces cellules favorisent la croissance capillaire, la formation de collagène ainsi que le développement du tissu de granulation dans le site de la plaie. Au sein de ce dernier, les fibroblastes fournissent du collagène, des glycosaminoglycanes et des protéoglycanes. Ces derniers sont les composants nécessaires à la formation de la matrice extracellulaire.

Après cette prolifération robuste et la formation de la matrice extracellulaire, le processus de cicatrisation entre dans sa phase finale de remodelage. Cette dernière peut durer des années [34]. Pendant cette phase, une régression vasculaire des nouveaux capillaires se produit afin de retourner à une densité vasculaire normale. La matrice extracellulaire subit un remodelage afin de recouvrer une architecture tissulaire proche de celle initiale. Enfin, la plaie subit une contraction physique pendant toute la durée de la cicatrisation qui serait induite par des fibroblastes contractiles.

Nous allons maintenant décrire, dans cette partie, la classification la plus récente à ce jour, celle de 2016 [35].

- **Stade 1 Lésion de pression Érythème persistant ou qui ne blanchit pas**

Peau intacte avec une zone localisée d'érythème qui ne blanchit pas au toucher, généralement située au niveau d'une saillie osseuse et qui peut apparaître différemment sur les peaux à pigmentation foncée. La présence de cet érythème ou des changements de sensation, de température ou de fermeté peuvent précéder les changements visuels. En outre, ces changements de couleur n'incluent pas la décoloration violette ou marron ; ceux-ci pouvant indiquer une lésion de pression des tissus profonds (DTPI : « *Deep Tissue Pressure Injury* »). La zone peut être algique, molle, dure, plus chaude ou plus froide par rapport aux tissus adjacents.

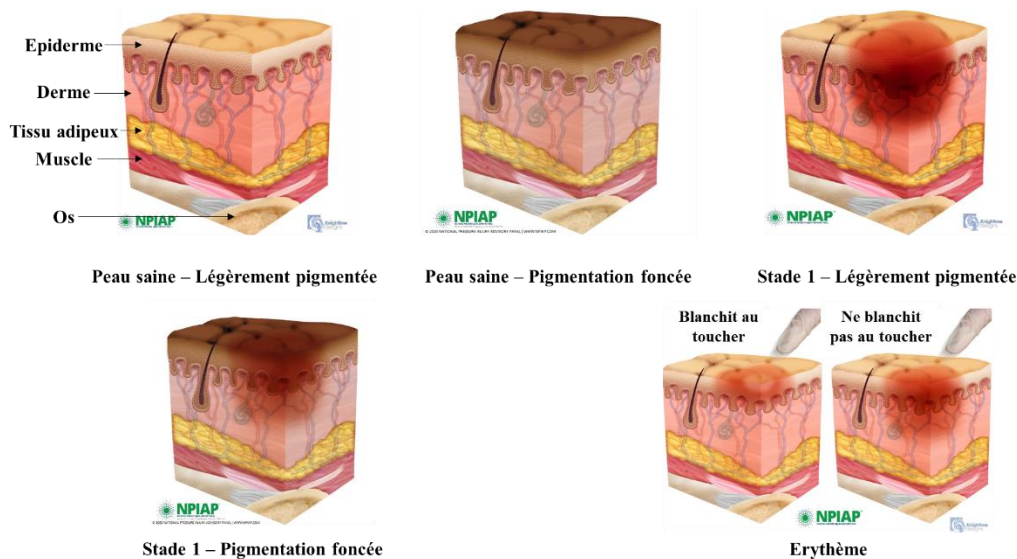


Figure 3 : Lésion de pression de Stade 1

- **Stade 2 Lésion de pression : Perte de l'épiderme avec derme exposé / Atteinte partielle**

Perte de l'épiderme avec derme exposé. Le lit de la plaie est viable, rose ou rouge, humide, sans fibrine et peut se présenter, également, sous la forme d'une phlyctène remplie de sérum intacte ou rompue. Le tissu adipeux (graisse) et les tissus les plus profonds ne sont pas visibles. Le tissu de granulation, la fibrine (« *slough* ») ainsi qu'une zone de nécrose noire (« *eschar* ») ne sont pas présents. Ces blessures résultent généralement d'un microclimat défavorable et de forces de cisaillement dans la peau située principalement au-dessus du bassin, et de cisaillement dans le talon.

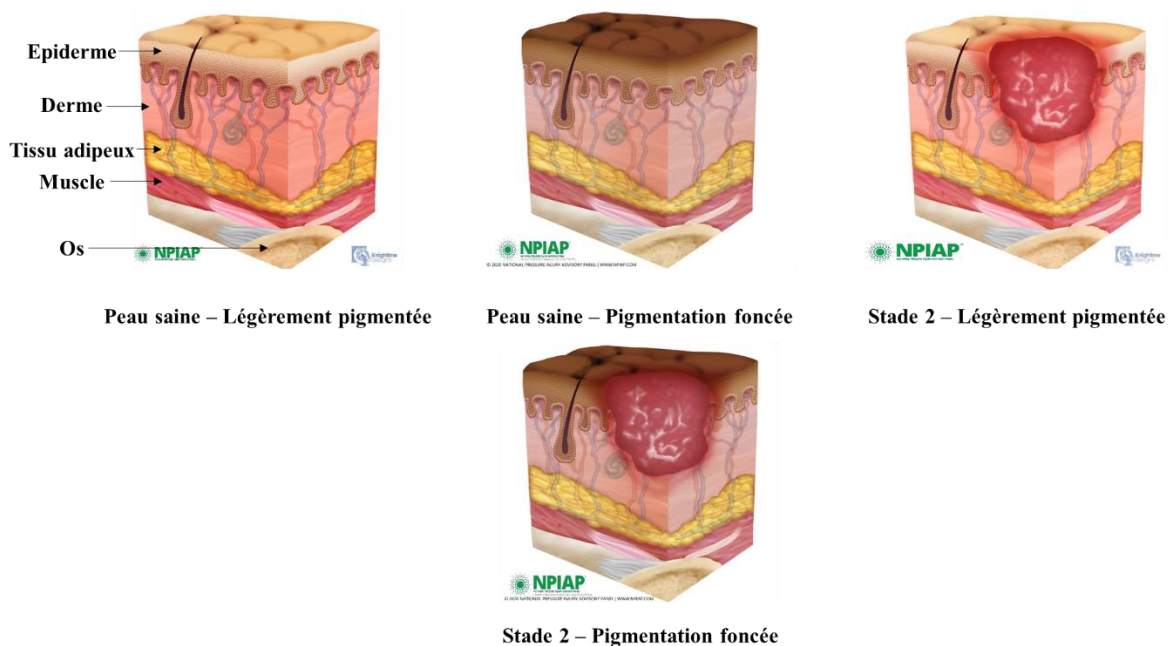


Figure 4 : Lésion de pression de Stade 2

- **Stade 3 Lésion de pression : Perte de l'épiderme et du derme**

Perte de l'épiderme et du derme avec tissu adipeux de l'hypoderme visible dans l'ulcère. Du tissu de granulation ainsi qu'une épibole (bords enroulés de la plaie) peuvent être présents. La fibrine ainsi qu'une zone de nécrose noire peuvent être visibles. La profondeur des dommages tissulaires varie selon la localisation anatomique. Les zones d'adiposité importantes peuvent développer des blessures profondes. Une plaie cavitaire peut apparaître. Le fascia, le muscle, le tendon, le ligament, le cartilage ou l'os ne sont pas exposés. Si la nécrose noire et la fibrine obscurcissent l'ampleur de la perte de tissu, la lésion de pression est dite « inclassable ».

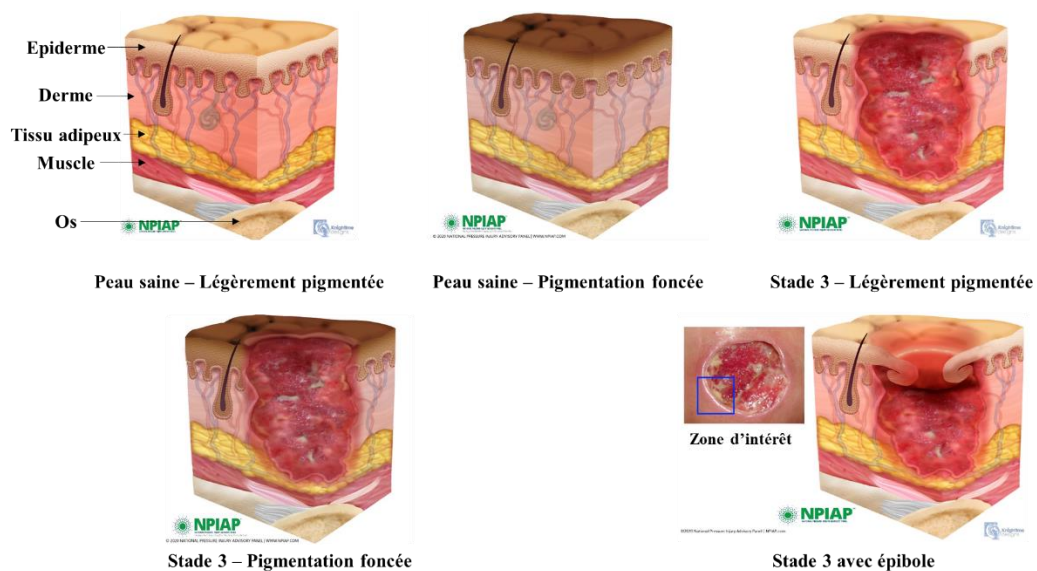


Figure 5 : Lésion de pression de Stade 3

- **Stage 4 Lésion de pression : Perte de peau totale avec tissu profond**

Perte de peau totale avec tissu profond (muscle, tendon, fascia, ligament, cartilage ou os) exposé dans l'ulcère. La fibrine et/ou la nécrose noire sont souvent présentes. Des épiboles (bords enroulés de la plaie), des tunnels et des affaissements sont souvent présents. Si la nécrose noire et la fibrine occultent l'ampleur de la perte de tissus, la lésion de pression est dite « inclassable ». La profondeur de la lésion de pression dépend de sa localisation anatomique. Pour l'oreille, les ailes du nez, l'occiput, et la malléole dépourvus de tissus sous-cutanés (adipeux), les lésions de pression peuvent être superficielles. Cette lésion peut s'étendre aux muscles et/ou aux structures de soutien (fascia, tendons, capsules articulaires) ce qui peut provoquer la survenue d'une ostéomyélite ou d'une ostéite. L'os et les muscles sont exposés, visibles ou directement palpables.

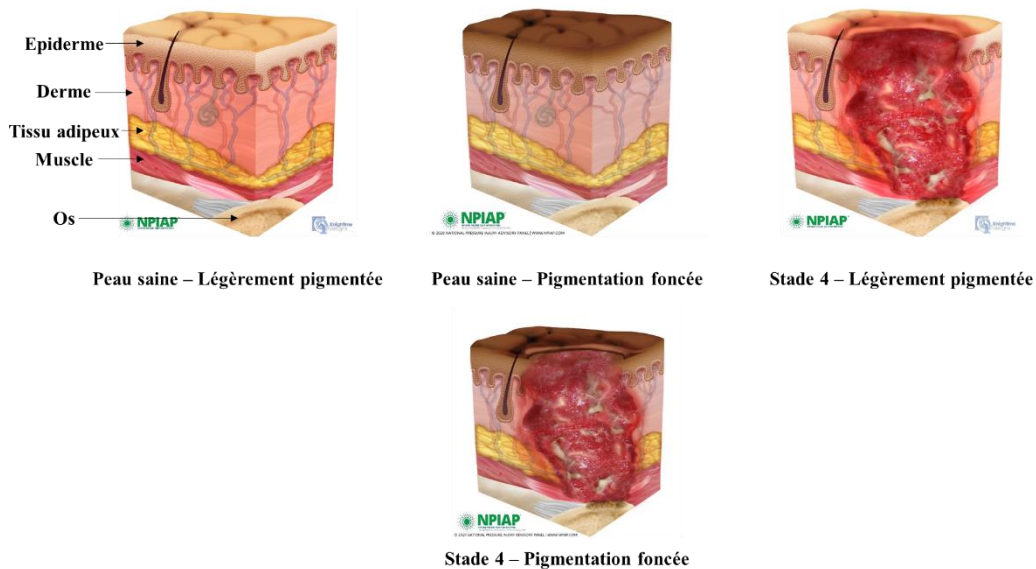


Figure 6 : Lésion de pression de Stade 4

En premier lieu, ces lésions sont provoquées par la pression. En second lieu, d'autres facteurs ont été identifiés comme favorisant son apparition tels que les cycles répétés de pression, la température, l'humidité, la friction ou encore les forces de cisaillement.

Pression mécanique : facteur déclenchant de l'ulcère de pression

Depuis les années 40, plusieurs expérimentateurs ont tenté d'expliquer la relation entre l'application de contraintes mécaniques extérieures et l'apparition de lésions de pression au travers de diverses expérimentations contrôlées sur des animaux. L'apparition de ces lésions était confirmée par l'observation d'une nécrose dans des coupes histologiques de tissu. Ainsi, la plupart de ces expérimentations ont conclu que les lésions de pression résultaient d'une nécrose des tissus provoquée par l'écrasement des capillaires perturbant ainsi la perfusion ou par un dommage mécanique à la suite d'une pression externe prolongée ou à une contrainte de cisaillement.

Comme nous l'avons décrit précédemment, les lésions de pression sont engendrées par la compression de la peau et des tissus profonds entre un élément de l'environnement (lit, chaise, chaussure, ...) et une proéminence osseuse.

L'application d'une pression prolongée engendrée par le poids du corps sur un muscle et la peau au-dessus d'une proéminence osseuse provoque une occlusion des vaisseaux sanguins empêchant notamment l'apport en nutriments provoquant la mort des tissus et une nécrose. La quantité et la durée d'exposition à la pression que peuvent être supportées sans lésion de pression a été étudiée en laboratoire chez les animaux et les humains. La relation entre le temps et la pression est une parabole (Figure 7).

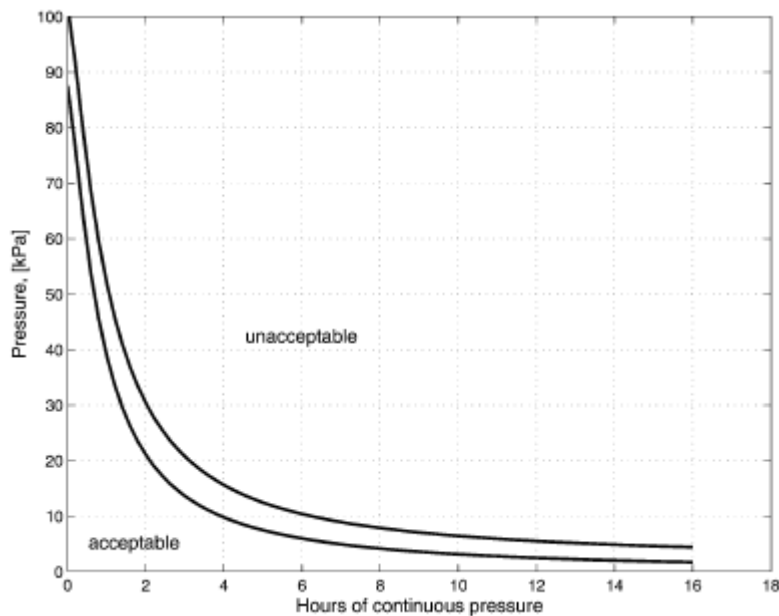


Figure 7 : Pressions acceptables versus temps d'application sur les tissus sous des proéminences osseuses [36]

La figure précédente montre qu'une pression faible peut être tolérée par les tissus plus longtemps qu'une pression importante [37] [38]. Les seuils de lésions tissulaires sont différents pour les tissus musculaires et la peau [39]. En effet, les muscles sont plus sensibles à la pression.

La valeur précise de la pression nécessaire à la formation de plaies de pression est variable et est susceptible d'être influencée par l'état et l'intégrité des tissus sur lesquels la pression est appliquée.

Plusieurs études ont tenté de déterminer la pression de seuil qui entraînerait systématiquement des lésions tissulaires. Ces valeurs sont fixées par des expérimentations animales en indentant les tissus mous avec différentes géométries. Groth en 1942 [40] a d'ailleurs mis en évidence, dans ses travaux, la relation entre la pression appliquée et l'apparition de lésions tissulaires. Le muscle fessier des lapins a été soumis à des contraintes mécaniques d'intensité variable pendant différentes périodes. Au travers d'une analyse histologique, une relation inverse a été déduite entre l'intensité de la force appliquée et sa durée. Ainsi, plus l'intensité de la pression est importante, moins de temps est nécessaire pour que des dommages musculaires n'apparaissent. Husain [41] et Kosiak [38] [42] ont observé les mêmes tendances. Ces derniers ont montré l'importance de la pression appliquée de manière continue ou intermittente comme cause de développement des lésions de pression [43]. Kosiak a mis en exergue qu'une pression supérieure à 6 kPa à la surface de la peau provoque un arrêt du flux capillaire conduisant à une thrombose veineuse, ce qui peut engendrer une ischémie locale. En outre, ces compressions peuvent engendrer une diminution assez marquée du flux lymphatique engendrant ainsi un mauvais drainage [44]. Tout ceci perturbe localement l'élimination des déchets du métabolisme et ralentit l'apport en nutriments engendrant ainsi une nécrose tissulaire. Une fois que la pression est relâchée, un œdème apparaît dans les heures qui suivent puis des leucocytes (cellules dendritiques, monocytes, neutrophiles, macrophages) s'infiltrant en raison d'une

extravasation après 24h ou 48h [45]. Enfin, un ulcère finit par apparaître au bout de quelques jours [42].

Husain a fait une observation pertinente : les pressions d'interface localisées oblitèrent plus de vaisseaux dans la peau et dans les tissus sous-cutanés que dans le muscle. Ce dernier fut sévèrement endommagé alors que les tissus et la peau non. Des études plus récentes ont montré, également, que le tissu musculaire est plus sensible aux charges mécaniques que la peau [46].

Le stress mécanique appliqué sur la peau a des répercussions niveau cellulaire. En effet, cette déformation cellulaire engendre une altération du cytosquelette [47] entraînant une perméabilité cellulaire [48]. Ces différents phénomènes peuvent engendrer des dommages cellulaires voire une mort cellulaire au bout d'une dizaine de minutes [49].

L'apoptose des cellules du tissu musculaire est activée au stade précoce des lésions de pression tissulaires profondes lors d'une exposition à une compression modérée prolongée [50].

Contraintes mécaniques de cisaillement et de friction

Les contraintes de cisaillement jouent un rôle prépondérant dans le développement des lésions de pression. Ces forces sont particulièrement dangereuses. Ces contraintes qui s'appliquent en surface de la peau peuvent provoquer, en déplaçant les couches constitutives des tissus les unes par rapport aux autres, des déformations cellulaires. En outre, la combinaison d'une pression et d'une force de cisaillement appliquées à la peau conduisent à une augmentation plus importante du rapport IL- α /Protéines Totales que lorsque seule la pression est appliquée. L'IL- α est une cytokine pro-inflammatoire qui est libérée après une lésion des kératinocytes et dont la libération augmente particulièrement après une contrainte mécanique exercée sur la peau. Cette augmentation est plus marquée avec les lésions de pression de stade 1 [51].

En 1958, Reichel fut l'un des premiers à mettre en lumière la menace pour le patient des frictions [52]. Son étude a montré que les patients avaient tendance à développer des ulcères de pression au niveau des tissus du sacrum lorsque la tête de lit était surélevée. La peau et les tissus superficiels adhèrent au tissu de la literie et sont, donc, étirés fermement au niveau de la zone du fascia profond. Ceci a pour effet d'étirer, de faire tourner et de traumatiser les vaisseaux sanguins de la zone concernée. En outre, la graisse sous-cutanée est peu résistante face à ce type de contrainte et est, donc, très sensible aux dommages des forces de cisaillement [53]. Ainsi, le cisaillement amplifie et aggrave les effets occlusifs des forces normales appliquées depuis l'extérieur sur les vaisseaux sanguins et amène plus de stress dans les tissus qu'une contrainte simple.

Les lésions de pression se développent de manière « *bottom-up* » : la plaie commence par porter atteinte aux muscles avant de migrer dans la peau [54]. La friction ne peut pas provoquer seule des lésions de pression mais peut entraîner des altérations soit mineures soit importantes de la peau [55]. Il s'agit plutôt d'un facteur de risque aggravant pouvant contribuer au développement des lésions de pression ou les exacerber en raison du cisaillement généré. Le frottement engendre une déformation des tissus par cisaillement augmentant le risque de dégradation des tissus et entraîne les plaies de pression.

En 1974, Dinsdale a observé que le cisaillement peut réduire considérablement le temps nécessaire au développement des ulcères de pression [56]. Une pression appliquée normalement à la surface combinée à la friction était plus néfaste pour les tissus. Cependant, l'apparition des lésions de pression n'est pas due à un mécanisme ischémique mais plus simplement au décollement de la couche cornée (*stratum corneum*) des autres couches constitutives de la peau [57].

Cycles d'ischémie/reperfusion

L'exposition de la peau à plusieurs cycles de pression consécutifs provoque des lésions cutanées plus importantes ainsi qu'une diapédèse au niveau du site de la plaie [58] [59] plus marquée qu'une compression qui serait réalisée en une seule fois [60]. En effet, la reperfusion provoque l'infiltration de cellules inflammatoires en coopération avec la production de cytokine pro inflammatoire [61]. A la libération de la pression, la peau subit une hyperémie pendant une période d'au moins 30 minutes. De plus, plus le cycle d'ischémie/reperfusion est important, plus les dommages tissulaires sont importants. [58].

Population à risque et facteurs de risque

Les plaies chroniques dont les escarres sont des problématiques communes aux établissements de santé. Les personnes âgées, celles avec des atteintes à la colonne vertébrale ou avec des déficits neurologiques ou encore victimes de processus dégénératifs, des patients avec des traumatismes ou des personnes avec une condition entravant la possibilité de se mouvoir librement en réponse à une perception d'inconfort sont plus sujet à développer des lésions de pression [62].

L'ulcère de pression a été récemment reconnu comme un problème central dans les questions de fin de vie. La répercussion de ces plaies chroniques est difficile à déterminer. En effet, il n'existe pas de registre national compilant les différents cas de lésions [63]. L'incidence projetée des lésions de pression par compilation des rapports de recherche est censée être comprise entre 0,4 % et 38 % pour les patients hospitalisés ; 2,2 % et 23,9 % pour les hospitalisations longue durée et près de 17 % pour les soins à domicile [64] [65].

Le coût des ulcères de pression doit être calculé en prenant en compte les coûts du traitement, ceux imputés au patient ainsi qu'à sa famille, et le coût pour la société qui est influencé par la perte du temps d'activité, les litiges, les fautes médicales etc. De manière générale, le calcul des coûts pour cette pathologie tend à se focaliser uniquement sur le coût des soins en occultant le reste.

Les facteurs de risque associés à la pathologie sont extrêmement nombreux et très variés, plus de 100. On peut citer notamment les comorbidités, le passé médical du patient (fracture de la hanche, atteinte de la colonne vertébrale, accident vasculaire cérébral, diabète, maladie cardiovasculaire, cancer, amputation, ...), les caractéristiques démographiques du patient (âge, sexe, ...) [66]. L'état physiologique du patient (pression sanguine, température du corps, perfusion tissulaire), son état nutritionnel (mauvaise alimentation) ou encore son état fonctionnel (incapacité à contrôler la fonction vésicale et intestinale) sont aussi des facteurs de risque [67].

En se basant sur une revue de la littérature, Braden et Bergstrom [68] ont développé un schéma conceptuel pour l'étude et l'étiologie des lésions de pression créant ainsi un cadre servant à organiser les facteurs de risque. Cette conception suggère qu'il y a deux facteurs majeurs de risque associés au développement des lésions de pression qui sont la durée et la quantité d'exposition à la pression des tissus ainsi que l'habilité de ces derniers à la supporter (Figure 8).

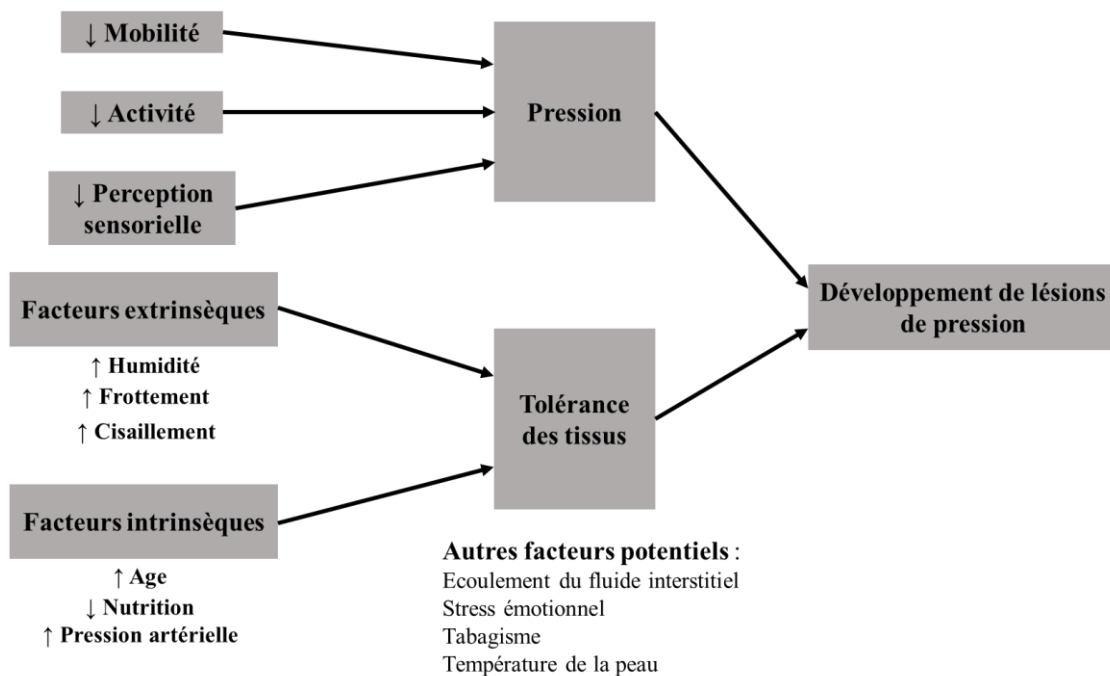


Figure 8 : Schéma conceptuel pour l'étude de l'étiologie des plaies de pression qui met en évidence les dépendances existantes entre les facteurs de risque de lésions de pression principaux et d'autres facteurs

Lors d'une hospitalisation, la pression subie par le patient est influencée par sa mobilité, son activité ainsi que sa capacité à percevoir son environnement. La mobilité fait référence à la capacité du patient à se retourner dans son lit. Les malades qui souffrent d'une lésion de la moelle épinière, d'une fracture de la hanche ou qui sont inconscients sont incapables de soulager la pression et sont, donc, susceptibles, sans assistance, d'être exposés pendant un temps très long à la pression. L'activité, quant à elle, fait allusion à la possibilité qu'a la personne soignée de s'extraire de son lit, seule, sans assistance et, ainsi, de supprimer toute pression de surfaces d'appui pendant l'ambulation ou encore de transférer son poids sur différents points d'appui lorsqu'elle est assise. La perception sensorielle correspond aux diverses capacités permettant de capter l'environnement extérieur et de réagir en fonction des stimuli basés sur l'exposition à la pression. Les individus souffrant d'une lésion de la moelle épinière, d'une lésion nerveuse ou encore d'un accident vasculaire cérébral peuvent être insensibles sur certaines zones de leurs corps. Ils sont, donc, incapables de détecter la gêne associée avec l'hypoxémie des tissus localement exposés à la pression. Enfin, d'autres individus

peuvent éprouver des difficultés à apprécier ou à communiquer l'inconfort engendré par la pression. D'autres ne peuvent tout simplement pas communiquer ou apprécier la gêne associée à la pression due principalement à la démence ou à cause d'autres facteurs.

2.2. Diagnostic et évaluation des risques

Dans un premier temps, il convient d'identifier la plaie de pression. Ensuite, il faut précéder à une classification de la lésion de pression suivant son stade et documenter de manière précise la surface de la lésion. Des évaluations supplémentaires de l'ulcère de pression comprennent son emplacement, l'état de la peau environnante, la présence de tunnels ou d'érosion des tissus, la quantité d'exsudat, l'odeur et la sensibilité [69].

Selon la plupart des recommandations, les personnes attachées à une chaise ou à un lit doivent être évaluées par le personnel soignant quant au risque de développer des lésions de pression lors de leur admission dans un établissement de soins. Cela fait sens car la condition du patient peut se dégrader extrêmement rapidement dans ce genre de situation corrélé à son état de santé. En outre, plus le nombre de facteurs de risque est important, plus la fréquence des ulcères de pression est élevée [63]. Une liste de contrôle des facteurs de risque peut aider le praticien dans son évaluation. Il s'agira à lui, ensuite, d'indiquer si le risque est présent chez son patient et s'il doit être traité.

Les outils d'évaluation des risques qui recoupent plusieurs diagnostics, les différentes caractéristiques des patients, les états physiologiques de ces derniers ou d'autres facteurs de risque, sont facilement utilisables de manière cohérente. L'un de ces outils de prédiction des risques couramment utilisés est l'échelle de Braden permettant de prévoir le risque de lésions de pression [70] [68]. Elle évalue un individu sur la présence et la sévérité des facteurs aggravants afin de déduire un score global de risque. Ce dernier fournit une identification de ceux qui nécessitent une intervention préventive. Cependant, un examen clinique ainsi qu'une formation solide sont indispensables pour utiliser correctement cette échelle et toutes les autres. L'échelle de Braden a beaucoup été testée [71]. Il existe d'autres échelles comme celles de Norton, de Waterlow ou de Gosnell. Plusieurs études cliniques ont été menées afin de tester l'efficacité en conditions réelles de ces échelles [72]. En fonction des pathologies, certaines d'entre elles se montrent plus ou moins efficaces.

L'évaluation de l'état de la peau doit être faite dès l'admission puis quotidiennement. Le tout doit être consigné rigoureusement. Un examen plus minutieux doit être effectué sur les peaux à pigmentation foncée avec une lumière rasante et une palpation des zones à risque. Ceci permet de détecter les changements de température localisés ou encore les durcissements de la peau. Cette technique, même si aucune étude clinique ne semble mettre en évidence son efficacité, offre l'occasion de redoubler d'efforts en matière de prévention.

En outre, il est important de conserver une bonne hygiène corporelle en gardant la peau propre et sèche en limitant les facteurs qui peuvent engendrer de la sécheresse cutanée comme une faible humidité ambiante ou encore une eau trop chaude ou encore l'utilisation de savon agressif. Des lotions hydratantes peuvent être appliquées sur la peau pour prévenir la sécheresse

cutanée. Il faut également minimiser l'exposition de la peau à l'humidité provenant d'une incontinence, de la transpiration ou du drainage d'une plaie. Il faut pouvoir traiter et évaluer les causes d'incontinence urinaire et fécale.

2.3. Méthodes de prise en charge et traitements

La redistribution de la pression permet de réduire cette dernière ainsi que le temps d'exposition des tissus au-dessus d'une proéminence osseuse avec le risque d'engendrer une ischémie ou encore une diminution du flux sanguin. Les types de surfaces utilisées regroupent les matelas, les systèmes de lit intégrés, les matelas et sur matelas, et les coussins. Faire correspondre les besoins du patient avec les capacités offertes par ces surfaces de maintien a un impact très positif et profond sur la santé et le bien-être du patient. Les surfaces de maintien redistribuent le poids du corps et permettent de protéger la peau et ses tissus tout en garantissant un alignement correct du corps. En outre, ces surfaces intégrées dans des systèmes de siège servent à contrôler la posture pendant le mouvement. Il faut veiller, cependant, à trouver cliniquement un équilibre entre objectifs de protection et objectifs fonctionnels.

Il n'est pas facile de sélectionner une surface de maintien personnalisée en fonction des caractéristiques individuelles du malade, de l'environnement ou encore les préférences du patient. Il faudrait pouvoir s'appuyer sur un algorithme de sélection afin de faciliter la prise de décision. McNichol (Laurie) *et al.* ont développé, au cours de leurs travaux, un algorithme sur lequel peut s'appuyer le personnel médical afin de choisir la surface de maintien la plus adaptée [73]. La première étape de cet algorithme correspond à l'évaluation initiale de l'état de la peau, suivie par l'évaluation du risque de lésions de pression. Basé sur le risque de développer des ulcères de pression (seuil du score de Braden de 18) ou sur la présence de ces derniers, les utilisateurs de l'algorithme suivent les chemins qui guident la prise de décision clinique pour le recours à la surface d'appui dans le cadre de la prévention ou du traitement des lésions de pression. La sélection de ces surfaces, dans cette procédure, est largement déterminée par les scores de Braden concernant la mobilité et l'humidité.

En outre, la connaissance de la performance et de la fonction de la surface de soutien est critique. Dans une étude réalisée par van Rijswijk et Krouskop [74], les paramètres de performance ont été mis en évidence avec l'identification de neuf caractéristiques clés suivantes :

- Contrôle de la friction entre le malade et le produit
- Contrôle de l'humidité
- Contrôle de la température
- Redistribution de la pression
- Contrôle de l'infection
- Espérance de vie
- Sécurité en cas de défaillance
- Réputation du produit
- Inflammabilité

Il est important, en complément de la catégorisation des fonctions et des performances, de récolter des données issues d'études cliniques. Ce travail est un effort global avec des participants provenant de nombreux pays. Aux États-Unis, par exemple, le travail est dirigé par la « *Rehabilitation Engineering and Assistive Technology of North America's* » (RESNA's) au travers du Comité des Normes en lien avec les fauteuils roulants et les sièges. L'effort de normalisation pour les matelas est mené par le « *Support Surface Standard Initiative (SSI) Committee* » rattaché au « *National Pressure Injury Advisory Panel* » (NPIAP). « *L'International Organization for Standardization* » (ISO) coordonne et publie les normes relatives aux coussins et aux matelas pour une utilisation mondiale. David Brienza *et al.* [75] ont d'ailleurs montré, d'un point de vue clinique, l'intérêt d'une telle technologie dans la prévention de l'escarre.

Nettoyer l'ulcère de pression est également une étape clé dans le traitement de cette pathologie. En effet, ce nettoyage permet d'éliminer le tissu dévitalisé et de diminuer la charge bactérienne. Le « *National Pressure Injury Advisory Panel* » recommande également de nettoyer la peau environnante [76]. Les lésions de pression peuvent présenter un retard à la cicatrisation en présence d'une concentration forte en bactéries [77]. L'action mécanique utilisée pour délivrer l'agent nettoyant doit être exercée avec une pression suffisante pour retirer les débris de peau sans pour autant traumatiser le lit de la plaie [76]. La pression recommandée pour nettoyer un ulcère est comprise entre 4 et 15 psi [78].

Au cours du 21^{ème} siècle, la cicatrisation des plaies a connu de nombreux bouleversements. En effet, le traitement des plaies a connu un nombre important d'avancées au cours de ces quarante dernières années. Cette révolution a été initiée par les découvertes du Dr Winter sur l'importance de la cicatrisation humide des plaies dans des expérimentations *in vivo* [79]. En parallèle de cette découverte, Cameron D. Hinman *et al.* ont montré que la ré-épithélialisation était plus rapide lorsque la plaie était occluse du fait entre autre d'une humidité plus importante. Il faut cependant associer à cette technique des agents antibactériens [80]. Après l'acceptation de ce concept de « cicatrisation humide », une multitude de pansements conçus pour favoriser l'humidification de la plaie ont commencé à apparaître sur le marché. Des matériaux autres que la cellulose (gaze), ont commencé à être testés et employés dans le traitement des plaies. L'objectif de ces pansements est donc, dans l'idéal, d'établir et de maintenir un équilibre d'humidité dans les tissus de la plaie similaires à celui d'un état sain ou pré-blessé. De nos jours, la cicatrisation en milieu humide avec l'utilisation de pansements humides est très répandue dans le monde de la santé et est très utilisée par les praticiens.

Cette technique de cicatrisation a exigé le développement de nouveaux matériaux pour les pansements afin de supplanter les revêtements passifs qui servaient autrefois tels que des plumes ou de la graisse. Les pansements servant de nos jours permettent la stimulation de la prolifération cellulaire. De plus, ils favorisent la migration des cellules épithéliales [81]. Les pansements humides ou ceux retenant l'humidité agissent également comme une barrière contre les bactéries et permettent d'absorber l'excès du liquide de la plaie. Tout ceci permet de créer des conditions idéales pour la cicatrisation [82] [83]. Les pansements modernes maintiennent la plaie dans un environnement humide tout en absorbant l'exsudat, contrastant ainsi avec les techniques classiques de gaze [84]. Ces dernières conduisent à la génération d'une croûte sèche

qui adhère fermement. De plus, les pansements actuels accélèrent la guérison, agissent comme une barrière, peuvent diminuer voire éliminer la douleur, et nécessitent moins de renouvellement. Ils assurent un débridement de la plaie autolytique [85]. Ils peuvent s'avérer rentables s'ils sont utilisés à bon escient.

Cependant, malgré les multiples avancées apportées par les nouveaux pansements, de nombreux praticiens notamment les chirurgiens continuent d'utiliser les gazes humides ou sèches [86]. En outre, ces gazes ne sont pas une barrière efficace contre les bactéries. En effet, dans une étude *in vitro*, Lawrence [87] a démontré que les bactéries étaient capables de passer au travers 64 couches de gaze sèche. L'humidifier la rend encore moins efficace. Le taux d'infections est plus important pour les plaies dans lesquelles les gazes sont utilisées comparées à celles couvertes avec des films transparents ou hydrocolloïdes [88].

La cicatrisation des plaies chroniques est intrinsèquement liée au maintien de l'humidité dans l'environnement de la blessure. En effet, un tel environnement favorise la croissance cellulaire et la prolifération du collagène au sein d'une matrice non cellulaire saine [89]. Cependant, il faut que le pansement puisse maintenir un équilibre d'humidité dans le lit de plaie car une quantité trop importante peut perturber le processus de cicatrisation, endommager la peau autour de la plaie et engendrer sa macération. Cet excès d'humidité doit être géré avec un pansement approprié afin d'empêcher une destruction des tissus autour de la plaie et une détérioration du lit de cette dernière [89]. Les films hydrocolloïdes furent parmi les premiers pansements à pouvoir maintenir un niveau d'humidité suffisant pour favoriser la cicatrisation des plaies.

Comme nous l'avons vu précédemment, la fonction principale des pansements pour les plaies est de fournir un environnement favorable afin d'améliorer et de promouvoir la cicatrisation des plaies. Ces dernières années ont vu l'acceptation par les praticiens des pansements humides comme environnement optimal accélérant la cicatrisation et diminuant le risque d'apparition de cicatrice. George Winter est souvent cité comme étant le père de la cicatrisation en milieu humide [79] notamment à travers la comparaison entre le séchage à l'air et l'utilisation de pansements occlusifs sur l'épithélialisation chez le modèle animal. Cependant, le fait d'occlure la plaie peut conduire à un développement bactérien et donc à une infection de la plaie ralentissant la mise en pratique de cette technique. En effet, seize années se sont écoulées entre les travaux de recherche de George Winter et la sortie du premier pansement humide, *OPSITE*. La recherche continue. Le retour d'expérience des cliniciens et l'intérêt croissant dans la cicatrisation de plaies ont poussé beaucoup de fabricants à un assortiment toujours plus important de références de pansement humide. Cela a poussé les équipes médicales à devoir s'adapter en permanence aux nouveautés et aux dernières technologies. Ceci représente un véritable défi.

Dans la suite, nous allons présenter quelques exemples de pansements utilisés dans le traitement des ulcères. Ces pansements doivent être choisis en fonction de la plaie à traiter (Figure 9) [90].

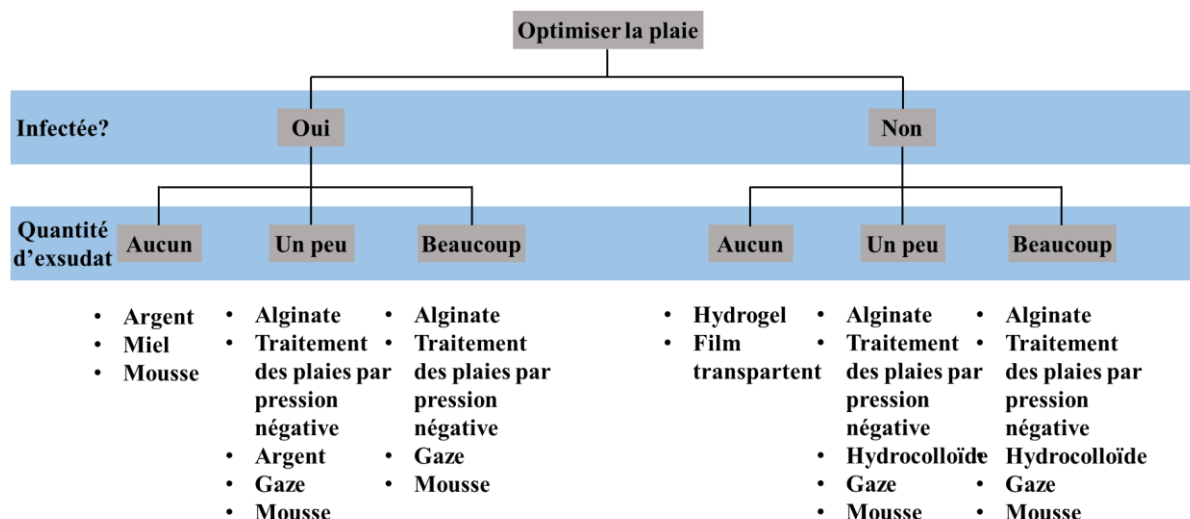


Figure 9 : Algorithme servant de support pour le choix d'une classe appropriée de pansements pour la gestion des lésions de pression

Aucun des pansements que nous présenterons par la suite n'a démontré sa supériorité et que le choix du pansement à appliquer sur la plaie dépend, évidemment, du type de blessure à traiter [91]. Il y a plusieurs choses à considérer en ce qui concerne la plaie : sa taille, sa profondeur, sa forme, sa localisation, la présence et le volume d'exsudat, la présence de tunnels, le décollement des tissus, le type de tissu dans le lit de la plaie et enfin l'état de la peau environnante. Il faut, d'ailleurs, veiller à ce que cette dernière soit protégée de toute humidité excessive et de toute friction pour éviter toute rupture. Les pansements doivent être changés régulièrement et dès qu'ils sont souillés par de l'urine ou des matières fécales afin d'éviter une infection de la plaie. La plaie doit être réévaluée à chaque changement de pansement.

Gaze

La méthode traditionnelle de pansement par gaze humide ou sèche est moins utilisée de nos jours pour le traitement des plaies de pression. Les matériaux sont peu coûteux. Cependant, il faut changer régulièrement les gazes engendrant des frais infirmiers importants qui doivent être pris en compte [92]. Correctement utilisé, ce type de pansement permet de maintenir un environnement humide autour de la plaie. De plus, lorsqu'elle est changée, la gaze permet de réaliser un débridement superficiel du biofilm ainsi que des débris nécrotiques notamment à cause de sa nature adhésive [93]. De nos jours, avec l'avènement de matériaux avancés pour les pansements, ce type de pansement est principalement utilisé lorsque rien d'autre n'est disponible [94].

Pansement en mousse

Les pansements en mousse sont faits à base de polyuréthane, un matériau semi-perméable. Ils peuvent, ainsi, s'adapter à un milieu à forte teneur en exsudat et peut donc être utilisés en présence de plaies infectées. Ils sont également perméables aux gaz et à l'eau. A cause de ses propriétés mécaniques, ce type de pansement peut être employé comme coussin [95]. En outre, ils fournissent un environnement humide à la plaie.



Figure 10 : Pansement de type mousse

Technologie à base d'argent

L'élément argent est connu pour ces propriétés bactéricides. Les pansements imprégnés avec ce dernier sont donc tout indiqués dans le traitement de plaies infectées. Ce type de pansement est très utilisé dans la gestion et le traitement des brûlures. Il existe de nombreuses gammes de pansements qui incorporent ce métal dans une base alginat ou hydrocolloïde [96]. Ce pansement doit être retiré après la disparition de l'infection car il peut retarder la cicatrisation de la plaie à cause, notamment, de la toxicité de l'argent pour les kératinocytes et les fibroblastes. L'argent se présente sous forme de carrés entrelacés avec de la corde qui s'adaptent bien aux plaies infectées avec exsudat et sous forme de gel pour les plaies plus sèches [97].

Pansement hydrocolloïde

Ils sont constitués d'une mousse ou d'un film de polyuréthane. Ils contiennent un matériau de type gel à base de gélatine ou de carboxyméthylcellulose (Figure 11). Ils sont bien adaptés aux plaies qui présentent un drainage minimal à modéré et sont souvent utilisés pour des escarres de stade II ou III [98].



Figure 11 : Pansement hydrocolloïdes

Pansement avec film transparent

Ils servent avant tout à protéger les lésions de pression de stade I ou II lorsque la peau reste intacte. Ils fournissent une barrière contre l'urine, les selles ou tout autre fluide corporel qui pourraient entraîner la macération de la plaie. Étant transparents, ils permettent donc d'observer l'évolution de la cicatrisation de la plaie et peuvent donc rester en place pendant plusieurs jours. En outre, n'étant pas poreux, il faut éviter de les utiliser pour des ulcères avec exsudat. Il faut faire attention en retirant ces pansements car ils peuvent déchirer la peau s'ils sont enlevés trop vigoureusement [99].



Figure 12 : Pansement avec film transparent

Pansement à base d'hydrogel

Les pansements à base d'hydrogel sont constitués de gel et sont composés à 90 % d'eau. Ils sont donc particulièrement indiqués dans le cas de plaies sèches ou déshydratées. Ils sont également utilisés sur des tissus de granulation. Généralement, ces pansements sont disponibles sous forme de feuille : l'hydrogel est appliqué sur un textile à la maille fine. On peut aussi les trouver sous la forme d'une gaze imprégnée ou encore sous une forme pure (amorphe) en tubes. Dans ce cas, il peut être déposé à la base d'une plaie de granulation non infectée. Enfin, ce pansement doit être recouvert par un autre plus dur afin d'éviter la dislocation de l'hydrogel et sa déshydratation [100].

Traitement des plaies par pression négative

Depuis trente ans, cette technique est utilisée aux États-Unis d'Amérique et est devenue une thérapie acceptée pour le traitement de plaies chroniques et dans certains cas pour les plaies aiguës. Ce traitement est utilisé couramment pour aider à la fermeture des plaies. Pour expliquer ceci, la théorie dominante est que le vide amène les cellules, dans le lit de la plaie, « ressentant » une force mécanique [101]. Ces forces mécaniques stimulent la prolifération des fibroblastes engendrant une meilleure cicatrisation.

Cette technique consiste en un pansement en mousse, qui peut être adapté à la plaie du patient. Ce pansement est ensuite recouvert d'un film transparent pour permettre de créer un vide dans

la plaie, la mousse étant fixée à un dispositif d'aspiration via un tube. Ce vide élimine en continu l'exsudat des plaies.

Avant d'utiliser les dispositifs à pression négative, la plaie doit être correctement débridée. Le pansement en mousse utilisé facilite l'application du dispositif sur des plaies aux formes inhabituelles, ou avec une tunnélisation ou avec un sous-minage.

Cet effet de succion associé au vide permet d'éviter toute contamination supplémentaire de la plaie. Cela peut s'avérer très utile pour les plaies adjacentes à un écoulement fécal où cette étanchéité prévient toute contamination de la plaie.

Le traitement de plaies chroniques par pression négative est contre-indiqué en cas de coagulopathie non corrigée, ou d'exposition des organes vitaux ou des gros vaisseaux [102]. Pour le confort du patient, un pansement non adhérent peut être disposé sous la mousse afin de diminuer la douleur lors du retrait du pansement en mousse ou au moment de l'aspiration.

La présence de tissus nécrotiques dévitalisés peut empêcher la cicatrisation des lésions de pression notamment à cause de la prolifération d'organismes pathologiques [103]. Le débridement est donc une étape capitale et cruciale dans la gestion locale des plaies de pression. Dans le cas où une quantité importante de tissus nécrotiques est présente, le débridement initial en salle d'opérations permet une intervention plus définitive. En outre, ceux qui seront effectués ultérieurement seront plus faciles à gérer au chevet du patient.

Il n'y a pas de méthode optimale pour le débridement. Le choix doit être dicté par les objectifs du patient, l'absence ou la présence d'infection, les considérations économiques pour l'établissement de soin et le patient, ou encore la quantité de tissu nécrotique.

Plusieurs cas pratiques montrent que le débridement n'est pas requis ou doit être proscrit : escarre sèche sans purulence ou sans variation avec un érythème minimal [69]. En outre, s'il y a peu de tissus sous-cutanés sous l'escarre, comme c'est le cas pour le talon, le débridement doit être fait avec précaution.

Plusieurs types de débridement peuvent être envisagés : chirurgical, autolytique, enzymatique, mécanique, biologique ou par laser [77]. Cependant, le débridement chirurgical est souvent considéré comme la technique la plus efficace. En effet, il s'agit au travers de cette pratique de découper à l'aide d'un scalpel les tissus nécrotiques [104]. Le débridement chirurgical pour traiter les ulcères de pression a été largement décrit dans la littérature, avec un premier rapport en 1950 afin de préparer adéquatement le lit de la plaie afin d'initier le processus de guérison [105].

Lors d'un débridement chirurgical, les tissus doivent être réséqués jusqu'aux tissus sains saignants. Des débridements répétés sont souvent nécessaires à cause de la difficulté à déterminer avec exactitude l'étendue de la nécrose [104].

Pour effectuer un débridement mécanique, il est possible d'utiliser l'énergie acoustique provenant des ultrasons. Ces derniers pour des basses fréquences permettent de réduire la charge biologique de la plaie et de faciliter la cicatrisation des lésions de pression [106]. L'hydrothérapie avec les bains à remous, les lavages pulsés peuvent occasionnellement être

utilisés pour le débridement des escarres. Il existe d'autres produits qui effectuent un débridement autolytique ou enzymatique au cours du temps lorsqu'un débridement chirurgical n'est pas nécessaire. Ce type de débridement est utilisé lorsqu'il n'y a pas d'urgence médicale [107].

Si le patient n'est pas en mesure de supporter un débridement chirurgical, il peut être envisagé d'utiliser pour débrider la plaie des asticots médicaux. Ces derniers permettent d'enlever les tissus morts permettant au processus de cicatrisation de s'amorcer [108].

L'objectif de toutes ces approches de débridement est de créer un lit de plaie avec des tissus bien granulés dans toute la cavité de l'escarre. Les ulcères de surface faible qui sont bien granulés peuvent guérir par ré-épithélialisation. Ceux dont la surface est plus importante nécessitent une greffe de peau ou d'un lambeau chirurgical.

Une étape importante dans l'évaluation initiale d'une lésion de pression est d'évaluer s'il existe des preuves d'une infection insuffisamment traitée. En effet, une lésion de pression ne peut guérir tant que l'infection n'est pas sous contrôle. Il faut examiner la plaie pour repérer la présence d'érythème ou de fluctuation liquidienne entourant la lésion de pression. La présence d'une crépitation est plus préoccupante et devrait aboutir à une évaluation rapide de la possibilité d'une infection nécrosante des tissus mous. S'il s'avère qu'il y a un contrôle inadéquat des sources de bactéries, le patient doit être conduit au bloc opératoire pour un drainage et un débridement appropriés de l'abcès.

L'utilisation d'agents topiques antiseptiques comme de la sulfadiazine argentine (Silvadene) et des antibiotiques par voie orale pendant une à deux semaines peuvent être utiles dans le traitement de l'infection. La stratégie est d'éliminer les bactéries afin de permettre à l'escarre de mieux cicatriser. Les plaies non cicatrisables ou infectées peuvent bénéficier de l'emploi à court terme de povidone iodée. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour étudier le rôle des antibiotiques topiques dans la diminution de la charge bactérienne des lésions de pression. En outre, les antibiotiques systémiques ne doivent être utilisés que sur le court terme car sur de longue durée ces derniers peuvent retarder la cicatrisation à cause de leurs effets cytotoxiques [109].

Bien que la majorité des lésions de pression guérissent à la suite d'un débridement ou des différents traitements évoqués précédemment, le recours à la chirurgie permet une cicatrisation plus rapide de ces plaies. Cependant, avant d'intervenir chirurgicalement, pour les patients présentant des difficultés à la cicatrisation, il faut pouvoir en identifier l'origine. En effet, de tels problèmes pourraient provoquer un échec de la cicatrisation par voie chirurgicale. Une multitude de techniques sont disponibles allant d'une simple greffe de peau à des lambeaux pédiculés ou plus rarement microvasculaires servant à couvrir la plaie. Le patient candidat à la reconstruction par chirurgie a une plaie non purulente, présentant une bonne granulation et qui est bien protégée de toute contamination. En outre, il doit être suffisamment nourri tel qu'évalué par le bilan nitrogène, l'albumine et la pré albumine, et sans comorbidités [69]. Il faut, de plus, dans l'idéal, veiller à ce que tous les problèmes intrinsèques qui peuvent provoquer un retard de cicatrisation soient contrôlés comme la glycémie chez les diabétiques. Chez un patient sain, cette technique de reconstruction chirurgicale accélère la cicatrisation. Une multitude

d'approches peuvent être envisagées dans le cadre de la couverture tissulaire. Ainsi, le plan de cicatrisation doit être personnalisé pour chaque patient. Les morceaux de peau sont positionnés afin d'être éloignés des sites de pression pour s'assurer des meilleures chances de guérison [110]. Le transfert de tissu microvasculaire est beaucoup plus rarement utilisé mais est employé lorsque les diverses options pour créer des lambeaux de peau sont épuisées.

Comme nous l'avons présenté dans cette partie, les méthodes de prévention et de traitement des lésions de pression sont coûteuses, difficiles à mettre en place et demandent un travail supplémentaire au personnel hospitalier déjà submergé. Ainsi, mesurer un champ de pression sur grande surface semble être une voix pertinente à explorer.

Nous nous attacherons dans la partie suivante à introduire les différentes technologies de capteurs de pression sur grande surface.

3. Technologie de capteurs de pression grande surface pour la prévention des escarres

Les premiers développements des capteurs de pression remontent aux années 50 et se sont basés notamment sur la découverte de l'effet de piezorésistance dans deux semi-conducteurs le Germanium et le Silicium [111]. Depuis ces dernières années, avec notamment le développement de la robotique, de la peau électronique ou encore des équipements électroniques portables flexibles, un engouement autour de nouveaux types de dispositif basés sur des capteurs de pression flexibles s'est développé. Les applications pour cette famille de capteurs sont multiples comme le divertissement, les jeux, les voitures, l'électronique grand public ou encore le domaine de la santé.

Il existe plusieurs mécanismes de transduction transformant cette pression en signaux électriques. Ils sont listés ci-après [112]:

- Piezorésistivité
- Capacité
- Piezoélectricité

Chacun de ses principes ont leurs propres caractéristiques (Figure 13).

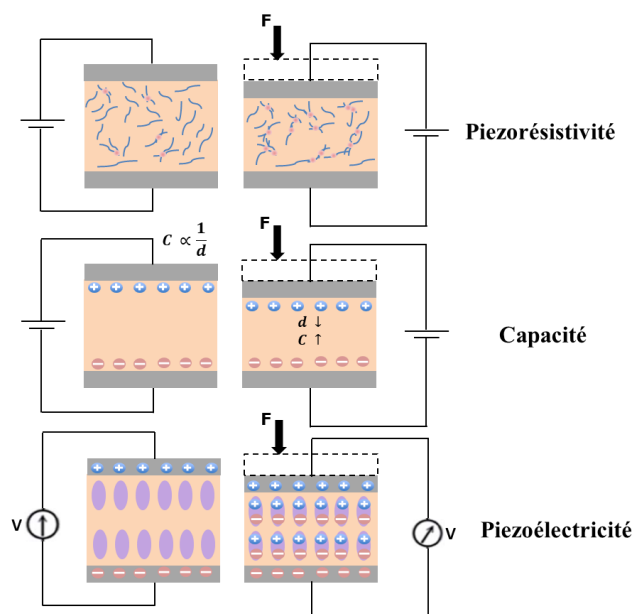


Figure 13 : Schémas de principe des différents mécanismes de transduction

Les détails associés à chacun d'entre eux sont présentés ci-après.

3.1. Capteurs piézorésistifs

Le principe de transduction des capteurs de pression piézorésistifs repose sur la conversion de variation de contrainte mécanique en signal électrique. Beaucoup de travaux ont été menés sur ce type de capteur [113]. En effet, ils sont faciles à mettre en œuvre et ne requièrent pas de structures complexes. De plus, il est possible de les miniaturiser, ce qui permet de réaliser une matrice de capteurs de haute densité de pixels [114]. En outre, les capteurs de pression piézorésistifs peuvent également s'avérer utiles pour caractériser une très large gamme de pression et donc d'assurer avec fiabilité la mesure de grandes contraintes mécaniques [115]. Le principal changement de signal électrique provient de la variation de la résistance de contact, R_C , entre deux matériaux lorsqu'une force est appliquée [116]. En outre, ils présentent généralement une vitesse de réponse rapide [117].

Une matrice de 6×6 capteurs sensibles à la pression étirable basée sur une matrice polymère a été développée par Luo et al. [118]. Un substrat poreux en PDMS a été utilisé en appliquant la méthode dite du modèle en sucre. La fabrication de cette matrice débute avec l'assemblage de mousses cylindriques d'oxyde de graphène (GO) placées dans les espaces du moule en sucre avec des lignes de cuivre à la surface, le polymère et son agent de durcissement (PDMS) sont versés dans la matrice de sucre. Enfin, le polymère est durci pendant 4 heures à 120 °C et la matrice de sucre est dissoute dans l'eau pendant 1 heure (Figure 14). Cette matrice ultra-souple présente une sensibilité à la masse de 200 mg et un temps moyen de réponse de l'ordre de 500 ms.

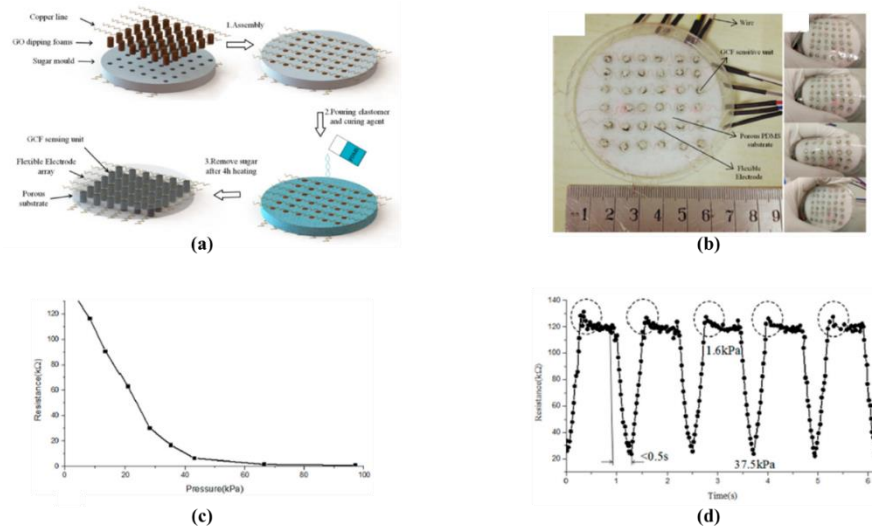


Figure 14 : (a) Procédé de fabrication de la matrice de capteurs de pression. (b) Photographie de cette matrice flexible et étirable. (c) Mise en évidence du comportement piézorésistif des mousses imbibées de graphène. (d) Test de stabilité et de répétabilité sur la matrice avec des cycles de pression [118]

3.2. Capteurs capacitifs

La capacité représente la capacité d'un matériau à stocker l'énergie électrique. Un capteur capacitif est composé, principalement, d'électrodes, d'un substrat, et d'un matériau actif généralement un diélectrique. Dans le modèle classique du condensateur plan parallèle, la capacité C est donnée par l'équation $C = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r S}{l}$ avec ϵ_r la permittivité relative statique du matériau diélectrique entre les électrodes, ϵ_0 la constante diélectrique, S l'aire des deux électrodes, et l est la distance entre ces dernières. Dans ce modèle de condensateur, il y a trois variables ϵ_r , la grandeur S et la distance l . Lorsqu'une déformation mécanique est appliquée, ces dernières sont modifiées engendrant une variation de capacité (Figure 13). La capacité est inversement proportionnelle à la distance entre les plaques et est proportionnelle à la constante diélectrique et à la surface effective des électrodes. Il est particulièrement difficile d'obtenir une sensibilité importante à cause de la dureté du matériau diélectrique. Ainsi, plusieurs capteurs ont été développés en utilisant des élastomères comme du PDMS possédant un module d'Young plus faible, de l'ordre de 5 kPa [119]. En outre, pour les capteurs de pression capacitifs, la variation de capacité peut être non-linéaire et est habituellement assez faible, de l'ordre de quelques picofarads, et reste donc difficile à mesurer. De plus, ces capteurs tendent à présenter une faible sensibilité.

Ke et al. [120] ont fabriqué un élastomère nano-composite. Des nanotubes de carbone ramifiés (CNS) combinés avec des nanoplaquettes de graphène (GNP) sont dispersés avec différents ratios dans du polyuréthane thermoplastique. Ces deux charges permettent d'améliorer la constante diélectrique et de supprimer la perte diélectrique des composites de polyuréthane thermoplastique tout en garantissant une excellente élasticité (Figure 15).

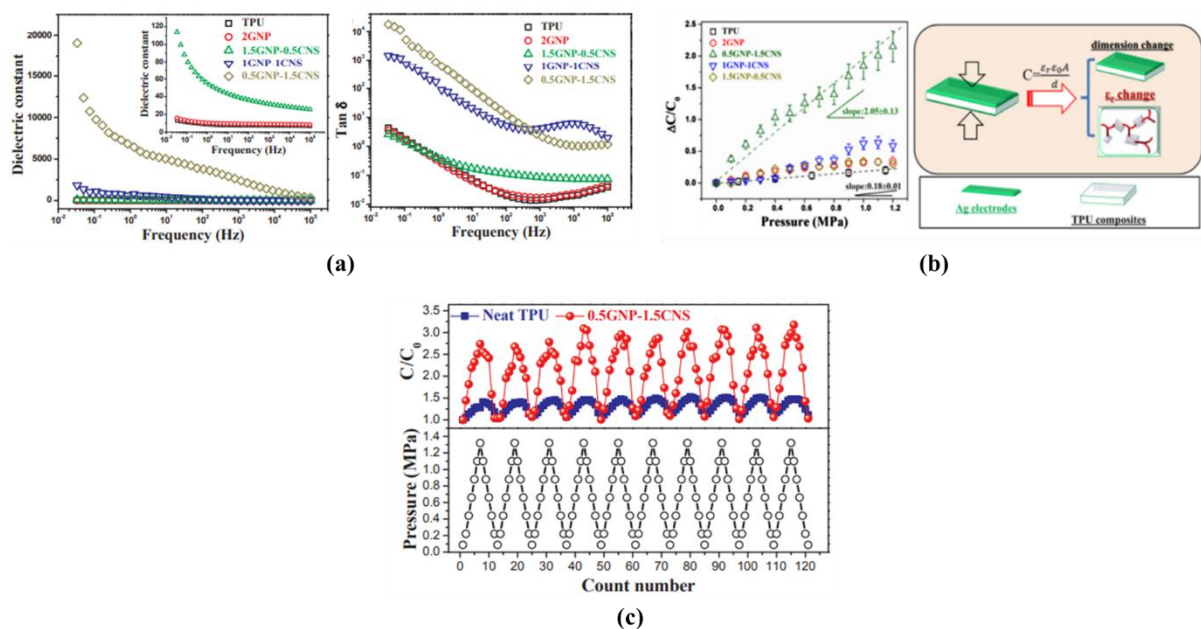


Figure 15 : (a) Variation fréquentielle de la constante diélectrique et la perte diélectrique en fonction des composites. (b) Architecture du capteur de pression capacitif avec illustration du mécanisme du changement de capacité et caractérisation de sa sensibilité en fonction du composite. (c) Réponse de la capacité relative du capteur pendant 10 cycles de pression. [120]

Ces chercheurs ont mise en place une méthode permettant de fabriquer des capteurs de pression capacitifs très sensibles basés sur des composites de polyuréthane thermoplastiques chargés avec des GNP/CNS. Ils peuvent modifier la sensibilité de ce capteur en ajustant la composition des charges GNP et CNS. Ils ont obtenu un capteur présentant une sensibilité de $2,05 \pm 0,13 \text{ MPa}^{-1}$ pour une gamme de pression comprise entre 0,1 et 1,3 MPa.

3.3. Capteurs piézoélectriques

La piézoélectricité est une autre méthode de transduction utilisée couramment pour les capteurs de pression. La piézoélectricité réfère à la génération de charges électriques dans certains types de matériaux solides comme certains cristaux ou certaines céramiques en réponse à une contrainte mécanique. Les moments dipolaires électriques qui apparaissent dans ces solides contribuent à l'effet piézoélectrique (Figure 13).

Au cours de ces dernières années, les capteurs de pression flexibles piézoélectriques ont reçu plus d'attention de la part des chercheurs. En effet, ils se montrent très sensibles, possèdent un temps de réponse rapide, sont peu coûteux à développer entre autres. Ils se montrent particulièrement indiqués pour la détection de la pression dynamique.

Les principaux matériaux piézoélectriques sont les quartz et les céramiques. Cependant, étant relativement fragiles, de nouveaux matériaux émergent comme le poly(vinylidène-fluorure-

trifluoroéthylène) (P(VDF-TrFE)), titanate de baryum (BaTiO₃), zirconate-titanate de plomb (PZT) et l'oxyde de zinc (ZnO).

Le (P(VDF-TrFE)) est un matériau piézoélectrique particulièrement intéressant car il possède une inertie chimique favorable, une relative simplicité de fabrication et un haut coefficient piézoélectrique ($d_{33} \sim -21.5 \text{ pC N}^{-1}$) [121].

Persano *et al.* ont utilisé ce matériau pour développer un capteur très flexible piézoélectrique [122]. Ce dispositif se base sur des réseaux alignés de nanofibres en (P(VDF-TrFE)) par la méthode d'électrofilage (Figure 16).

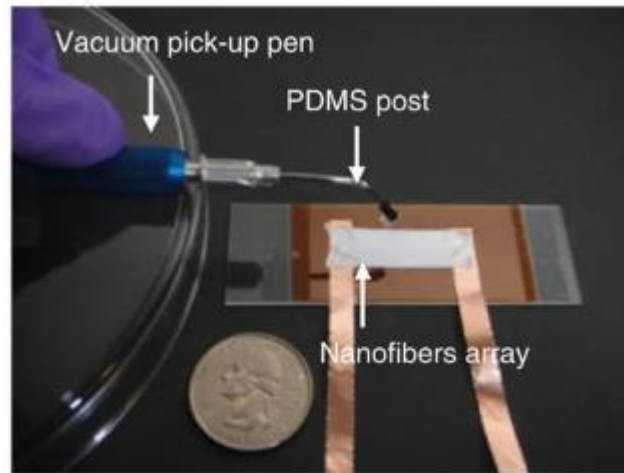


Figure 16 : Capteur piezoélectrique constitué d'un réseau de nanofibres de P(VDF-TrFE)

Le dispositif présente un temps de réponse très court, une très grande sensibilité. En effet, il peut détecter des pressions inférieures à 0,1 Pa.

Parmi les technologies disponibles pour la réalisation de capteurs de pression : piezorésistive, capacitive et piezoélectrique, le choix s'est porté sur la première de ces technologies en raison de ses particularités suivantes : bonne sensibilité, peu sensible aux parasites, et électronique de conditionnement relativement simple à mettre en place et peu coûteuse

4. Détection d'escarres

Les lésions de pression provoquent des dommages cellulaires et des changements dans les propriétés tissulaires. Pour pouvoir détecter les lésions, il est nécessaire de caractériser les tissus biologiques impliqués.

4.1. Méthodes de caractérisation des tissus biologiques

Plusieurs techniques d'analyse de composition de tissu biologique et de détection de plaies sont répertoriées dans la littérature : l'absorption biphotonique à rayons X (DXA) [123], la résonance magnétique nucléaire (NMR) [124] ou encore la conductivité électrique totale du corps (TOBEC) [125]. Ces techniques ne peuvent, cependant, pas être intégrées et miniaturisées dans un patch transdermique pour la caractérisation de la peau humaine. En effet, ces techniques nécessitent des équipements de très grande taille. D'autres techniques, comme la densitométrie hydrostatique, ont été éliminées car elles sont incompatibles avec des mesures *in vivo*.

Finalement, nous pouvons réduire cette liste aux techniques suivantes pour l'analyse biologique de la composition des tissus :

- Ondes ultrasoniques
- Propagation micro-onde
- Spectroscopie proche infrarouge
- Spectroscopie de bioimpédance

4.1.1. Les ultrasons

Principe de fonctionnement

Les ultrasons sont des ondes mécaniques et élastiques de fréquence comprise entre 20 kHz et 1 GHz [126]. Ces ondes se propagent dans un tissu biologique ; elles sont, par la suite, réfléchies par ce tissu. L'analyse de la propagation de ces ondes permet de déduire de nombreuses propriétés biologiques [127]. En effet, les paramètres de l'onde réfléchie varieront en fonction de l'impédance acoustique des différents composants de l'échantillon biologique. Pour l'Homme, plusieurs valeurs d'impédances acoustiques sont référencées ci-après [128] :

- Sang : $1,66 \times 10^6 \text{ kg.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
- Muscle : $1,68 \times 10^6 \text{ kg.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
- Os : $7,75 \times 10^6 \text{ kg.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
- Graisse : $1,38 \times 10^6 \text{ kg.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

Afin de caractériser la composition d'un tissu biologique en utilisant les ultrasons, il est nécessaire de disposer d'un dispositif composé d'une sonde ainsi que d'une électronique permettant le traitement des signaux émis et réfléchis.

Les sondes à ultrasons se composent généralement des éléments suivants (Figure 17) :

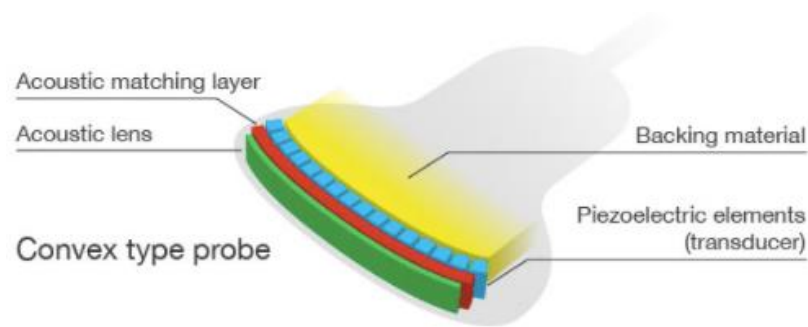


Figure 17 : Composants d'une sonde à ultrasons

- Le matériau de renfort (*Backing material*) évite les vibrations excessives du transducteur.
- Le transducteur piezoélectrique (*Piezoelectric transducer*) contenant les cristaux piezoélectriques. Ces derniers se déforment à la fréquence à laquelle ils sont excités par une tension électrique, générant ainsi une onde acoustique qui se propagera dans le tissu biologique. Plus la fréquence de l'onde acoustique est élevée, meilleure est la résolution. En revanche, la profondeur de pénétration de cette onde est affaiblie.
- La lentille acoustique (*Lens*) permet de « focaliser » les ondes acoustiques sur la région du tissu pertinente pour l'analyse.
- La couche de correspondance (*Matching layer*) est utilisée pour réaliser l'adaptation d'impédance acoustique du tissu biologique tout en réduisant la friction mécanique.

D'un point de vue électronique, des convertisseurs *boost* permettant d'élever la tension sont généralement utilisés. En effet, les éléments piezoélectriques pour se déformer nécessitent une tension de l'ordre de 50 V.

Plusieurs techniques peuvent être envisagées afin d'analyser la réponse en signal :

- Un convertisseur analogique-numérique (CAN) à haute vitesse pour analyser la réponse fréquentielle.
- Un détecteur de crêtes suivi par un intégrateur pour mesurer l'énergie du signal reçu.
- Un bloc de traitement du signal avec un *timer* afin de mesurer le retard du signal réfléchi.

Ces différents blocs peuvent être utilisés séparément ou combinés selon les applications envisagées.

Avantages, inconvénients et limitations

Cette technique d'analyse des tissus biologiques a l'avantage d'être rapide et précise. Elle permet, avec une seule mesure, d'avoir une information sur la teneur en graisse, os et muscle d'un tissu analysé.

Cependant, le principal inconvénient de cette technique d'analyse est la nécessité d'utiliser des tensions élevées, de l'ordre d'une cinquantaine de volts, afin de déformer les différents éléments piezoélectriques. Ces tensions ne peuvent s'obtenir qu'en utilisant des élévateurs de tension particulièrement énergivores dont l'architecture repose sur l'utilisation de composants externes

(condensateurs, bobine). Il est possible de réduire la consommation énergétique [129] en excitant le tissu à caractériser avec une forme d'onde dont la période est plus faible au prix malheureusement de précision dans la mesure.

4.1.2. La propagation micro-onde

Principe de fonctionnement

Andrey Kletsov [130] a décrit, dans ses travaux de recherche, le fonctionnement d'un capteur micro-onde de faible encombrement permettant l'imagerie sans contact de la structure du corps humain. Ce capteur est constitué d'antennes d'émission et de réception qui doivent être positionnées au-dessus de la surface du corps humain (Figure 18).

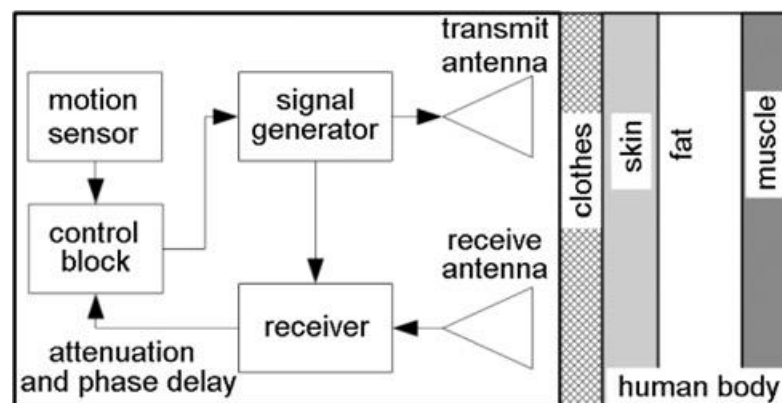


Figure 18 : Structure du capteur micro-onde [130]

Les mesures sont réalisées dans le domaine fréquentielle. La génération de signaux (*signal generator*) est réalisée à l'aide du Hittite HMC732LC4B, oscillateur large bande contrôlé en tension. Ce dernier fournit des ondes sinusoïdales avec 200 pas fréquentiels dans une bande de 6-10 GHz. Cet oscillateur est contrôlé par une boucle à verrouillage de phase Fujitsu MB15E03. Ces signaux émis via l'antenne d'émission (*transmit antenna*) sont réfléchis lors de leur passage dans les différentes couches du corps humain et sont détectés par l'antenne de réception (*receive antenna*). Les signaux de l'antenne de réception sont détectés par un récepteur hétérodyne basé sur un détecteur de gain/phase RF/IF AD8302. Le récepteur (*receiver*) est destiné à détecter l'atténuation en amplitude et le retard en phase des signaux reçus par rapport à ceux émis.

Pour pouvoir reconstituer une image des tissus adipeux sous-cutanés, les réflexions aux frontières entre différents tissus sont analysées. En effet, le coefficient de réflexion pour la frontière graisse-muscle est d'environ 0,33 tandis que celui de la frontière graisse-peau est de 0,38. Ainsi une grande partie de l'énergie micro-onde est réfléchi à ces frontières.

Une calibration est nécessaire pour ce genre de capteur afin d'éliminer les signaux parasites provenant du couplage entre les antennes de réception et d'émission à travers l'air et la peau. La structure des tissus sous-cutanés adipeux est obtenue grâce à des méthodes de filtration inverse.

La figure suivante (Figure 19) montre un exemple d'une image reconstruite d'un tissu adipeux sous-cutané obtenu après traitement des données brutes.

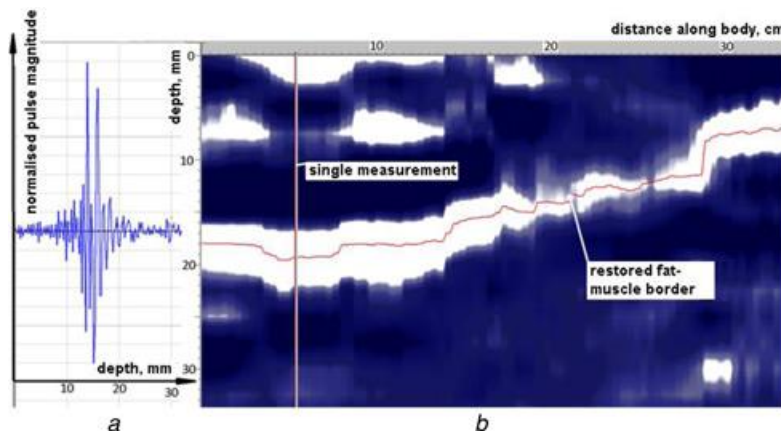


Figure 19 : Reconstruction d'un tissu adipeux obtenu à partir des données brutes. Les points blancs correspondent aux piques des signaux réfléchis dans le domaine temporel. La courbe grise représente la frontière entre le tissu adipeux et le muscle.

Avantages, inconvénients et limitations

Cette technique a l'avantage d'être rapide et non invasive.

En revanche, cette méthode est particulièrement sensible aux parasites et peut donc produire des erreurs de mesure importantes. Ces dernières peuvent être provoquées par plusieurs paramètres qui peuvent fausser les résultats de mesure du dispositif comme la densité du tissu adipeux cutané et sous-cutané entraînant une atténuation dans la propagation des ondes dans le muscle.

4.1.3. La spectroscopie proche infrarouge

Principe de fonctionnement

Les techniques de spectroscopie et d'imagerie consistant à envoyer un rayon lumineux sur un échantillon de tissu biologique et à détecter la lumière qui est réfléchi ou transmise sont des moyens bien connus et efficaces de déterminer la composition, la structure et la fonction des tissus [131]. En effet, le rayonnement proche infrarouge provoque une réaction différente pour chaque type de tissu. La plupart des recherches en optique tissulaire ont utilisé des longueurs d'onde dans le spectre visible et proches de l'infrarouge (≈ 400 à 1000 nm). Les longueurs d'onde proches de l'infrarouge ont d'abord pour but de caractériser l'état fonctionnel d'un tissu en mesurant la concentration en hémoglobine oxygénée et désoxygénée [132]. En outre, certaines études ont utilisé des signaux détectés aux longueurs d'onde du proche infrarouge (900 à 1000 nm) afin d'extraire des paramètres liés aux concentrations en eau et lipidiques des tissus. En effet, l'eau et les lipides possèdent de petites caractéristiques d'absorption au

voisinage de longueurs d'onde de 930 nm [133] et 970 nm [134]. Ces études ont permis d'obtenir des informations sur les changements en quantité d'eau (fraction) dus à un œdème ou à une brûlure [135] ainsi que sur les modifications des quantités relatives d'hémoglobine, d'eau, de lipide dans les tumeurs au niveau du sein [136].

Le tissu musculaire absorbe plus qu'il ne réfléchit. En revanche, les cellules dont la taille avoisine les centaines de micron provoquent une forte réflexion. En effet, le proche infrarouge émet dans les longueurs d'onde comprises entre 600 et 1300 nm [137]. Enfin, le tissu adipeux contenant moins de chromophore absorbe moins de lumière. Le Tableau 2 regroupe les paramètres optiques μ_a pour l'absorption et μ_r pour la réflexion des tissus adipeux et musculaires sur différents sujets [138] [139].

Tableau 2

	Sujet	μ_r (mm ⁻¹)	μ_a (mm ⁻¹)
Muscle	1	0,450	0,022
	2	0,450	0,020
Tissu adipeux	1	1,2	0,003
	2	1,2	0,004

D'un point de vue électronique, la mise en place de la partie émettrice et réceptrice est relativement simple. Pour l'émission, un ou une association de plusieurs composants peuvent être utilisés pour émettre du rayonnement infrarouge comme des diodes électroluminescentes (DEL) ou des lasers. Pour la partie réception, un circuit de conversion photoélectrique basé sur un amplificateur transimpédance peut être utilisé (Figure 20) [140].

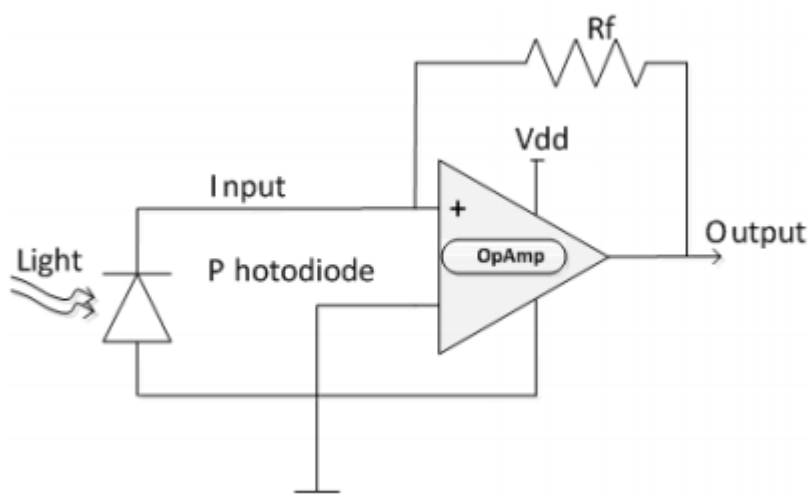


Figure 20 : Circuit de conversion photo-électrique

Avantages, inconvénients et limitations

Cette technique présente l'avantage d'être simple à implémenter, rapide et précise. En revanche, pour une application portable et embarquée, les diodes électroluminescentes proche-infrarouge consomment trop d'énergie avec un courant de fonctionnement de l'ordre de la centaine d'ampères. En outre, la spectroscopie proche-infrarouge peut provoquer un échauffement local de l'ordre d'une dizaine de degrés engendrant un inconfort [141].

4.1.4. La spectroscopie par bioimpédance

Principe de fonctionnement

La spectroscopie par bioimpédance permet de mettre en exergue différents procédés biologiques, offrant ainsi un large spectre d'opportunités pertinentes dans le suivi d'un champ important de biomarqueurs. En effet, dans la littérature, plusieurs études ont mis en évidence la pertinence de cette méthode de caractérisation dans un large éventail d'applications : estimation de la composition du corps, caractérisation des globules rouges [142], détection d'ulcères de pression ou encore détection de cellules cancéreuses [143].

Chaque tissu biologique a une réponse différente pour une gamme de fréquence donnée. En 1957, Schwan a identifié 3 zones de fréquence : la dispersion α (Hz-kHz), la dispersion β (kHz-MHz) et la dispersion γ (MHz-GHz) [144]. Chacune de ces régions de dispersion est régie par différents phénomènes biologiques. Il est donc clair que pour faire une caractérisation rigoureuse d'un tissu biologique, il est nécessaire d'en déterminer son impédance complexe sur une large gamme de fréquences.

Cette méthode de caractérisation consiste à estimer la composition d'un tissu biologique au travers de la mesure de l'impédance complexe à différentes fréquences. Plusieurs configurations d'électrode (bi, tétra ou quadripolaire) peuvent être envisagées, associées à une source de courant ou de tension servant à stimuler le tissu biologique à analyser. Réciproquement, une tension ou un courant est ensuite mesuré afin de calculer cette impédance complexe [145] (Figure 21).

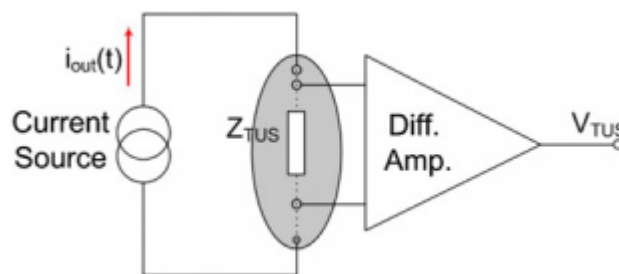


Figure 21 : Représentation idéale d'un système de mesure de bioimpédance à quatre électrodes

Avantages, inconvénients et limitations

La bioimpédance est une technique relativement simple à implémenter. L'instrumentation peut être embarquée et est relativement peu coûteuse [146]. En outre, les mesures peuvent être effectuées extrêmement rapidement sans nécessiter une formation longue. La spectroscopie d'impédance requiert peu de maintenance [147]. Les mesures sont sûres, non invasives, et faciles à réaliser ne requérant que le positionnement d'électrodes sur la peau. De plus, la lecture des différentes mesures est immédiate et ces dernières peuvent être répétées autant de fois que nécessaires.

La spectroscopie d'impédance a démontré son utilité dans la détection et le suivi de cicatrisation de plaies comme nous les verrons dans les nombreux exemples d'application décrits ci-après.

Cependant, cette technique de mesure peut présenter une grande variabilité à cause de sa sensibilité à de nombreux facteurs extérieurs comme la température ou l'activité musculaire (Tableau 3).

Tableau 3 : Récapitulatif des avantages, et inconvénients des différentes techniques retenues

Techniques	Ultrasons	Micro-ondes	Proche-infrarouge	Bioimpédance
Avantages	Rapide, précise	Rapide, non invasive	Précise, rapide et simple	Bas coût, rapide, peu consommatrice d'énergie, non invasive, grande variété de biomarqueurs caractérisables, a fait ses preuves dans la détection de plaies et le suivi de cicatrisation
Inconvénients	Relativement gourmande en énergie, haute tension, encombrement	Grande variabilité dans les mesures, mesure uniquement la teneur en eau	Risque d'endommagement des tissus sur le long terme, consommation en énergie	Sensibilité de la mesure à l'activité musculaire et à la température

Plusieurs études concernant l'implémentation de la détection et du suivi de cicatrisation des plaies ont été publiées récemment.

Par exemple, Lukaski C.H. *et al.* ont suggéré qu'une mesure d'impédance à une fréquence unique déterminée de 50 kHz en configuration tétrapolaire est une méthode efficace pour suivre l'évolution d'une plaie diabétique [148]. La figure suivante (Figure 22) montre la disposition des quatre électrodes de surface. Deux servent à injecter un courant alternatif de 800 μ A à une

fréquence de 50 kHz (câble noir) et les deux autres à mesurer la différence de potentiel ainsi générée.



Figure 22 : Positionnement des 4 électrodes pour la mesure de bioimpédance d'une plaie à une fréquence de 50 kHz

L'impédance est déterminée en utilisant la loi d'Ohm.

Pour mesurer l'impédance, les chercheurs ont utilisé le *Quantum IV* de *RJL Systems*. Cet instrument permet de déterminer la partie réelle (résistance) et la partie imaginaire (réactance) de l'impédance. La tension diminue lorsque le courant d'excitation traverse la plaie (résistance) et les membranes lipidiques cellulaires retardent la transmission du courant d'excitation (réactance). La résistance leur permet de déduire des informations sur le liquide extracellulaire et la réactance sur la membrane cellulaire. Ils ont également calculé à partir de ces deux données la phase. Ils peuvent en déduire la vitalité de la membrane cellulaire. Leur but est de caractériser le processus de cicatrisation. La Figure 23 indique les variations de résistance, de réactance et la phase de l'impédance pendant une cicatrisation de plaie (19 mm de longueur, 17 mm de largeur et 2 mm de profondeur) d'étiologie traumatique.

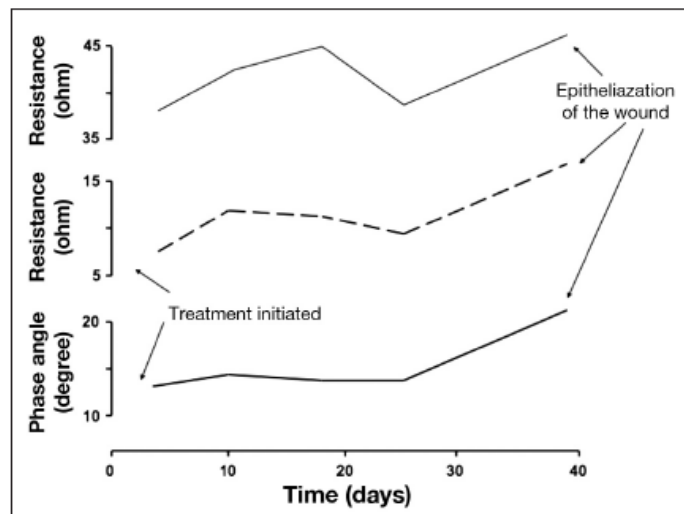


Figure 23 : Mesures de la résistance, de la réactance, et de la phase pour une cicatrisation sans complication. Après le début du traitement, une cicatrisation réussie est caractérisée par une augmentation de la partie réelle, imaginaire et de la phase de l'impédance. Ceci traduit une diminution du fluide extracellulaire et un accroissement du développement cellulaire.

Après le traitement, la résistance augmente pendant 18 jours (Figure 23) puis décroît transitoirement au jour 20 jusqu'au jour 25 à cause d'érythème puis augmente, de nouveau, jusqu'à l'épithélialisation au 39^{ième} jour. La réactance augmente jusqu'au jour 10 puis se stabilise pour finalement croître jusqu'au jour 39. La phase, quant à elle, suit une tendance similaire à celle observée avec la réactance. Ainsi, globalement, la tendance pour ces trois paramètres est une augmentation linéaire pour la résistance, la réactance et la phase, respectivement de 11 %, 90 % et 50 %, pendant une cicatrisation sans complication. Ceci est cohérent avec une diminution du fluide extracellulaire, et une augmentation de la masse cellulaire, de la vitalité et de l'épithélialisation.

Lukaski C.H. *et al* ont également observé que les différentes procédures médicales visant à faciliter la cicatrisation des plaies affectent les paramètres d'impédance (Figure 24).

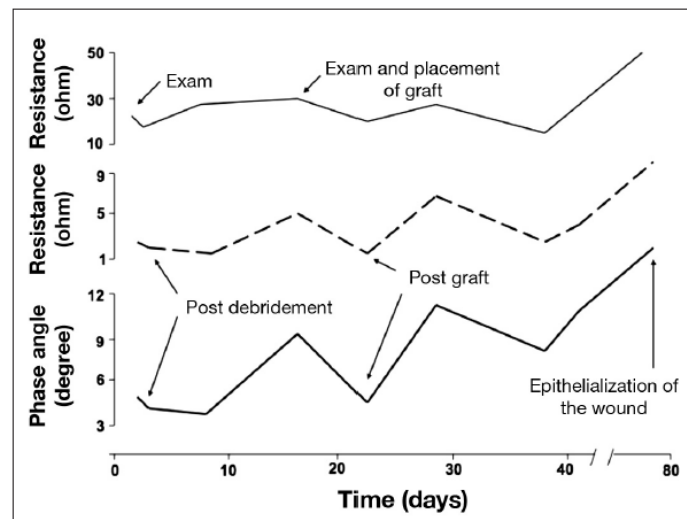


Figure 24 : Variations des différentes variables associées à la bioimpédance (résistance, réactance et phase) en réponse au débridement d'une plaie et à l'application d'une greffe de peau afin de favoriser la guérison. Les diminutions à court terme des valeurs de résistance, de réactance, et de la phase après le débridement et la greffe de peau indiquent des augmentations modestes du fluide extracellulaire et des cellules. S'ensuit une augmentation globale de ces variables indiquant un retour aux différents mécanismes normaux conduisant à la cicatrisation.

La figure précédente (Figure 24) présente la variation des variables associées à l'impédance d'une plaie débridée et traitée avec une greffe de peau. Le débridement de cette incision chirurgicale non cicatrisante (25 mm de longueur, et de largeur et 100 mm de profondeur) du genou après une intervention chirurgicale d'un ligament a induit une diminution temporaire de la résistance, de la réactance et de la phase de l'impédance de la plaie (2%, 28% et 30% respectivement). Cela semble indiquer une perturbation distincte dans les membranes et fonctions cellulaires. Les traumatismes des tissus résultant de la préparation de la plaie et de l'application de la greffe de peau provoquent une décroissance des trois variables de l'impédance indiquant une plus grande perturbation cellulaire que du fluide extracellulaire. Les augmentations marquées des grandeurs résistance, réactance et phase (28%, 210% et 178%

respectivement) après récupération de la greffe par le patient suggèrent une diminution du fluide extracellulaire, et essentiellement une prolifération cellulaire et une réparation de plaie.

Lukaski C.H. *et al* ont, aussi, mis en évidence la possibilité de détecter une complication, comme une infection, lors de la cicatrisation de plaie. En effet, des variations notables des données de bioimpédance (Figure 25) ont pu être observées sur un patient ayant développé une infection à Staphylocoques dorés résistants à la méticilline, un antibiotique.

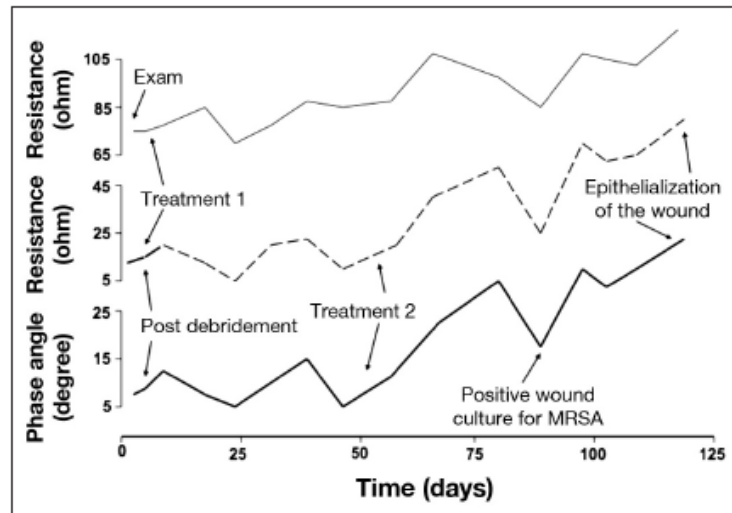


Figure 25 : Effets d'une infection sur les données de bioimpédance d'une plaie d'un patient. Cette infection à Staphylocoques est marquée par une décroissance des valeurs de résistance, de réactance et de phase. Ces changements sont plus importants que ceux observés avec des traitements conventionnels.

Contrairement aux données récoltées lors du débridement de la plaie, cette infection à Staphylocoques due à une neuropathie diabétique a provoqué des diminutions substantielles des parties réelles, imaginaires et de la phase de l'impédance. Ces variations perturbent l'augmentation temporelle de ces paramètres observée lors de la cicatrisation. En outre, ces chercheurs indiquent que ces taux de changement importants ont permis de révéler la présence de l'infection avant sa détection par des méthodes classiques de laboratoire. Ce motif de variation semble suggérer que l'infection augmente le fluide extracellulaire et fait diminuer les nombres de cellules.

Cette étude met en exergue la pertinence de la spectroscopie d'impédance pour l'évaluation clinique des effets du traitement des plaies. De faibles diminutions des parties réelles, imaginaires, et de la phase de l'impédance sont observées immédiatement après le débridement de la plaie. Ces diminutions sont plus marquées avant une infection.

Après le traitement de la plaie et la cicatrisation, l'impédance augmente substantiellement.

Finalement, cette étude vient confirmer l'hypothèse selon laquelle cette technique de caractérisation électrique illustre de manière non invasive la structure et les différents mécanismes mis en jeu au niveau cellulaire.

La partie réelle est inversement proportionnelle au liquide extracellulaire et directement proportionnelle au caillot de fibrine et à l'épithélialisation. Cette composante de l'impédance permet donc d'indiquer une guérison réussie de la plaie.

De même, la partie imaginaire de l'impédance reflète la quantité de cellules. En effet, les membranes cellulaires consistent en une bicouche lipidique qui se comportent électriquement comme un condensateur. Ainsi, des augmentations de la partie imaginaire indique une prolifération cellulaire et une granulation des tissus. En revanche, une diminution, selon l'observation de Lukaski C.H. *et al*, de cette composante de l'impédance traduit la présence d'une infection et une dégradation cellulaire.

Weber S.A. *et al*. ont mis au point un dispositif (Figure 26) permettant de cartographier une plaie via une mesure d'impédance en configuration tétrapolaire [149].

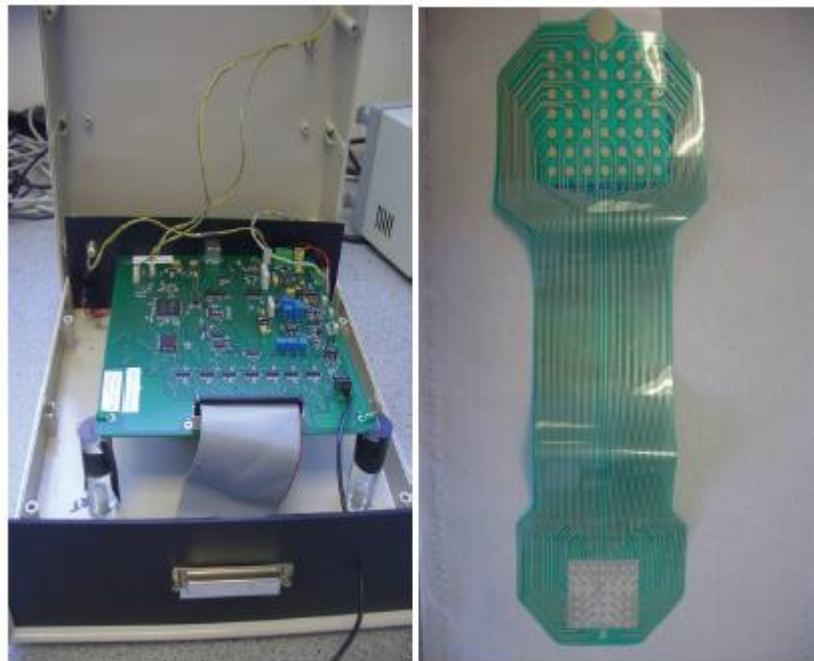


Figure 26 : Prototype du dispositif ImpediMap avec sa matrice d'électrodes

Une matrice d'électrodes est incorporée dans un pansement stérile et l'impédance du tissu sous-jacent à chacune des électrodes est mesurée par une électronique spécifique (Figure 26). Ce réseau d'électrodes est imprimé par sérigraphie avec une encre Argent-Chlorure d'Argent sur un substrat flexible. Cette matrice est composée de 49 électrodes (Figure 27) [150].

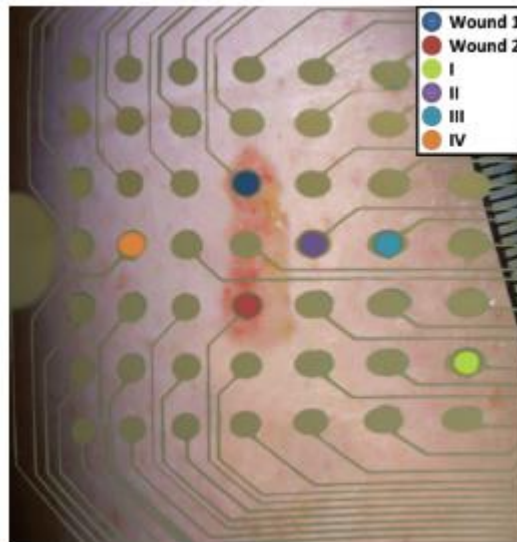


Figure 27 : Matrice d'électrodes mesurant l'impédance d'une plaie

L'électronique présentée à la Figure 28 s'articule autour d'un processeur de signal numérique (DSP Digital Signal Processor) qui contrôle les mesures et le multiplexeur commutant le signal de mesure à travers le réseau d'électrodes.

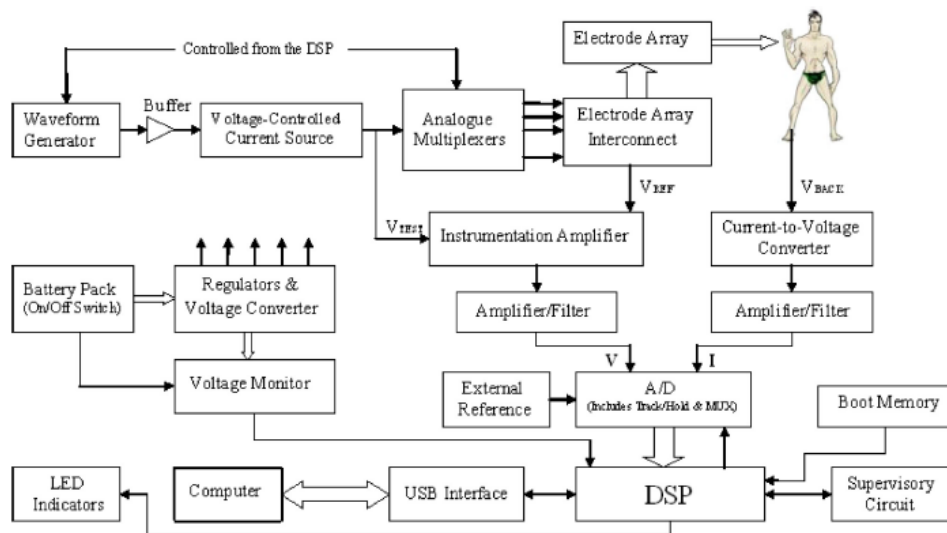


Figure 28 : Vue d'ensemble de l'électronique associée au système de cartographie de plaie

Ce dispositif est alimenté par une batterie afin d'assurer la sécurité du patient. Des tests ont été menés sur des fréquences discrètes comprises entre 11 Hz et 935 Hz. Le courant de mesure est obtenu via une source de courant contrôlée en tension permettant de limiter le courant de sortie à 10 μA rms. Ce signal de sortie est ensuite commuté vers le réseau d'électrodes grâce à des multiplexeurs.

Un amplificateur d'instrumentation permet de mesurer la différence de potentiel entre chaque électrode testée (V_{TEST}) et pour l'électrode de référence (V_{REF}). Le signal de sortie de cet amplificateur est conditionné par un étage amplificateur/filtre.

Un convertisseur courant-tension permet, ensuite, de transformer le courant appliqué au niveau de l'interface peau-électrode en une tension qui peut être mesurée. Encore une fois, cette tension est, par la suite, amplifiée afin de s'assurer un bon conditionnement du signal pour toute conversion analogique numérique. Ce signal numérique est ensuite analysé par le processeur du traitement du signal (*DSP Digital Signal Processor*).

Un logiciel spécifique a été développé afin de faciliter la communication entre le dispositif et un ordinateur. Le clinicien peut s'en servir pour rajouter des données relatives au patient, lire l'impédance, afficher les informations sur la taille de la plaie et des statistiques sur la cicatrisation.

Le dispositif mis au point a été testé dans le cadre de la phase 2 d'une étude clinique visant à investiguer si le Juvidex (mannose-6-phosphate) accélérerait la cicatrisation sur des sites donneurs de greffe de peau d'épaisseur variable chez des volontaires sains. L'essai incluait cinq groupes, chacun d'entre eux permettant d'explorer différentes doses et différents schémas posologiques. Le dernier groupe a permis de comparer un placebo avec les contrôles ayant subi la méthode de soin standard sans traitement supplémentaire. Les plaies ont été réalisées à l'aide d'un Dermatome électrique avec un réglage de la profondeur de 400 μm .

Au cours de cette étude, les résultats d'impédance ont été comparés à des paramètres cliniques pertinents comme la ré-épithélialisation et la perte en eau transdermique (*Transepidermal Water Loss TEWL*). Weber S.A. *et al* ont utilisé un circuit équivalent électrique dérivé du modèle de Cole afin d'analyser les données d'impédance (Figure 29).

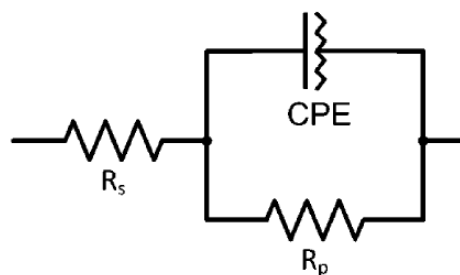


Figure 29 : Circuit équivalent utilisé afin d'étudier la cicatrisation

Ce circuit repose sur la variation des propriétés électriques des couches de la peau relativement à la fréquence du courant d'excitation. En effet, l'épiderme, couche extérieure de la peau, sèche, se comporte comme un condensateur aux hautes fréquences. Aux basses fréquences, l'impédance de cette couche de la peau met en évidence, principalement, des propriétés résistives [151]. Cela aboutit à la modélisation de l'épiderme par une résistance R_p en parallèle avec un condensateur (Figure 29). Les strates plus profondes de la peau sont plus « humides » et auront tendance à favoriser la circulation du courant. Elles sont donc représentées par une simple résistance R_s .

Il est possible d'améliorer ce modèle notamment car, sur une certaine gamme de fréquence, la phase du condensateur n'est plus égale à 90° . Cela conduit à l'introduction d'un élément à phase constante dont l'impédance est donnée par la formule suivante :

$$Z_{CPE} = \frac{1}{C} (j\omega)^{-\alpha}$$

Lorsque le coefficient α est égal à 1, l'élément à phase constante correspond à un condensateur avec l'impédance classique $\frac{1}{jC\omega}$. Ainsi la représentation, dans un lieu d'impédance, du schéma équivalent électrique de la Figure 29 est un arc de cercle dont le centre est sur l'axe des abscisses.

Pour les tissus, ce paramètre α est inférieur à 1. Il tend typiquement plutôt vers 0,8 pour les tissus de peau saine [152]. Cette valeur dépend du taux d'humidité du tissu [153]. Pour une valeur du paramètre α strictement inférieure à 1, la représentation de l'opposé de la partie imaginaire en fonction de la partie réelle est un arc de cercle dont le centre se situe sous l'axe des nombres réels.

Trois mesures ont été faites au centre des plaies obtenues. Ils ont remarqué, au cours de leur étude, des impédances de faible valeur quasiment purement résistives. Ceci est probablement dû, principalement, à l'absence des couches de la peau retirées par le Dermatome électrique. Pour les jours suivants, ils ont observé une augmentation de l'impédance. Aux jours 8 et 9, les arcs d'impédance quasi complets ont été observés. Selon eux, cela indiquerait une cicatrisation significative de la peau. Le diamètre de l'arc d'impédance qui correspond au paramètre R_p de la Figure 29 a augmenté significativement d'un jour à l'autre. Ainsi, la spectroscopie d'impédance permet de discriminer les plaies ouvertes d'une peau quasiment refermée.

Pendant les jours qui ont suivi, les impédances et plus particulièrement le paramètre R_p ont continué de s'accroître. Ceci pourrait signaler une augmentation de la couche cornée.

Les paramètres C et α du modèle de Cole ont été moyennées sur les trois plaies. L'évolution, dans le temps, de ces paramètres a été comparée avec des paramètres cliniques.

L'évolution du paramètre C a été comparée avec la perte insensible en eau (*TEWL Trans epidermal Water Loss*) et avec le taux de ré-épithélialisation. Ce dernier a été déterminé par un panel de cliniciens (Figure 30).

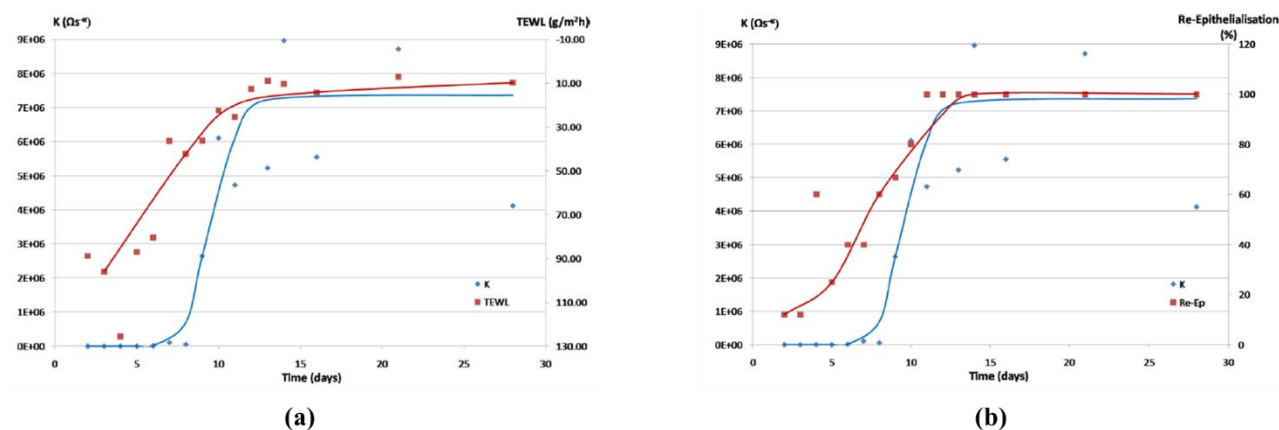


Figure 30 : (a) Évolution de la perte insensible en eau et du paramètre moyenné du modèle de Cole C (b) Evolution du paramètre moyenné $\frac{1}{C}$ et de la ré-épithélialisation

La Figure 31 montre l'évolution du paramètre α au regard des deux mêmes paramètres cliniques.

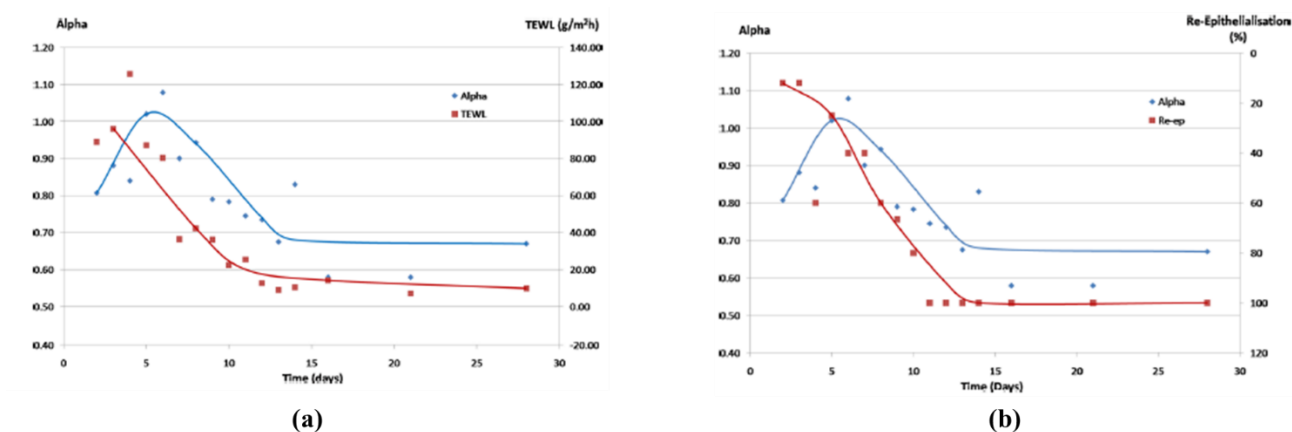


Figure 31 : (a) Évolution de la perte insensible en eau et du paramètre moyenné du modèle de Cole α (b) Evolution du paramètre moyenné α et de la ré-épithélialisation

Weber S.A. *et al.* ont démontré une corrélation de 95 % entre l'évolution des deux paramètres du modèle de Cole et les deux paramètres physiologiques : pertes insensibles en eau et taux de ré-épithélialisation. La corrélation la plus élevée est entre le paramètre α et le taux de ré-épithélialisation.

Ils ont développé un dispositif qui permet aux cliniciens de suivre la cicatrisation d'une plaie sans perturber ce processus. Ils ont observé que le paramètre R_p du modèle de Cole augmentait fortement au fur et à mesure de la restructuration de la peau. En outre, ils ont noté que le module de l'impédance d'une plaie ouverte est significativement différent de celui d'une plaie qui n'est pas encore complètement cicatrisée. Cette étude a mis en évidence que le module d'impédance peut être utilisé pour réaliser la cartographie d'une plaie.

En outre, ils ont observé que les paramètres $\frac{1}{C}$ et α du modèle de Cole, traduisant les propriétés pseudo-capacitives de la peau, diminuaient progressivement. Ils ont, également, noté une bonne corrélation entre des propriétés physiologiques comme le taux de ré-épithélialisation et la perte insensible en eau et les paramètres du modèle de Cole $\frac{1}{C}$ et α .

Ainsi cette étude a mis en évidence non seulement la pertinence de la spectroscopie d'impédance pour caractériser les tissus mais aussi la possibilité de miniaturiser cette mesure d'impédance au travers un dispositif électronique relié à des électrodes flexibles.

Swisher *et al.* ont pu mettre en évidence, dans leur étude, la pertinence de la spectroscopie d'impédance en configuration bipolaire avec un pansement intelligent (Figure 32) permettant d'observer les lésions tissulaires induites par la pression. Ils ont été capables de les détecter même si ces dernières n'étaient pas visibles.

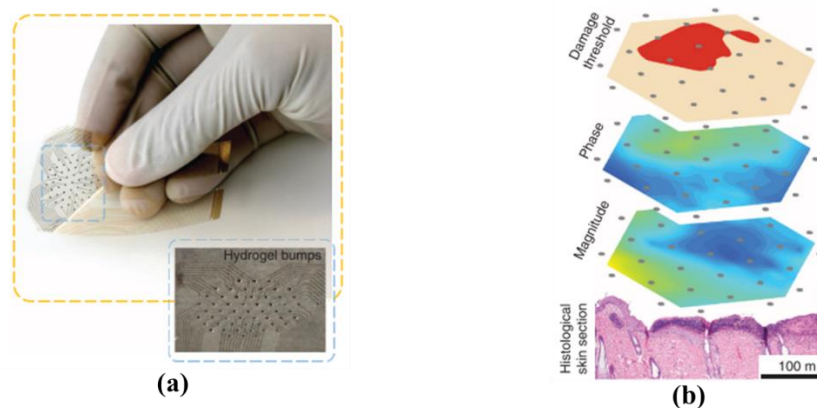


Figure 32 : (a) Réseau de 55 électrodes d'or imprimées par jet d'encre et disposées de manière hexagonale. De l'hydrogel est disposé sur chacune d'elles. (b) Mode d'opération du dispositif : ce dernier est positionné sur la plaie et une mesure d'impédance est réalisée entre chaque paire d'électrodes.

En outre, ils ont démontré, au cours de leur étude, que les différences de bioimpédance augmentaient progressivement les jours suivants l'induction des lésions de pression (Figure 33). Cette conclusion se base sur la différence de conductivité entre des tissus sains et endommagés.

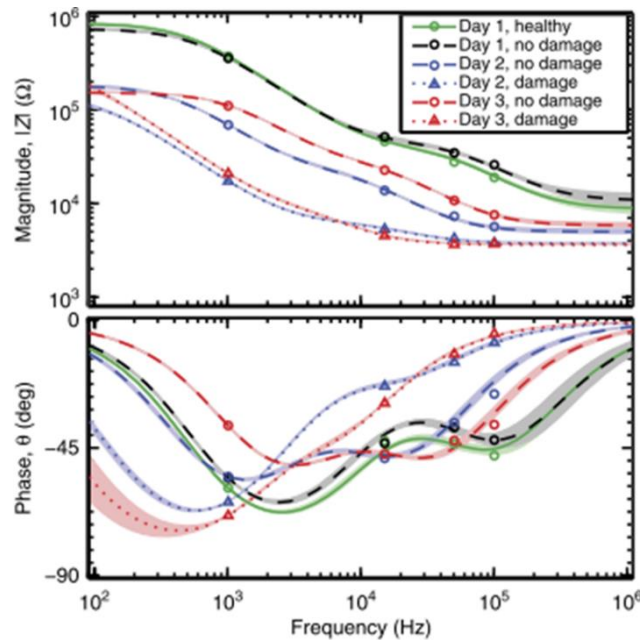


Figure 33 : Spectres d'impédance comparant des tissus sains (*healthy*) et des tissus endommagés par application de pression (*damage*) avec une évolution sur 3 jours

En 2015, Kekonen A. *et al.* ont pu en utilisant une configuration bipolaire démontrer également que la bioimpédance est un outil prometteur dans l'évaluation de l'état d'une plaie. Dans le cadre d'une mesure bipolaire, la même paire d'électrodes est utilisée pour générer le courant d'excitation et pour mesurer la tension résultante.

Des données d'impédance ont été collectées sur une plaie superficielle d'une taille de 3 par 4 cm chez un homme de 31 ans (Figure 34).



Figure 34 : Plaie superficielle aigüe après 2, 3 jours

Les mesures ont été réalisées avec des électrodes couvertes d'hydrogel *Ambu Blue BRS* associées aux appareils *Solartron SI1260*, un impédancemètre, couplé au *Solartron 1294A*, une interface permettant d'améliorer la précision de la mesure d'impédance notamment en permettant de réaliser une mesure 4 points.

Une mesure d'impédance est réalisée sur la peau saine (H1) et sur la plaie (W) selon la configuration suivante (Figure 35) :

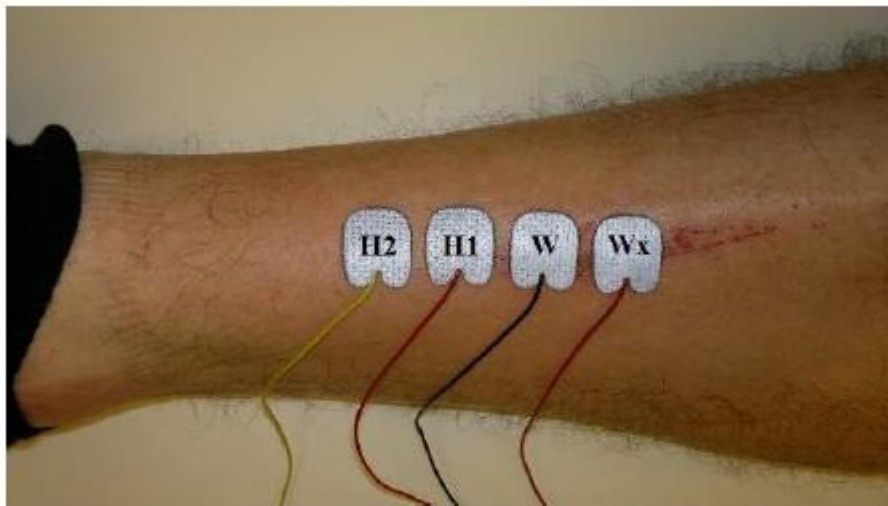


Figure 35 : Les électrodes W et H1 permettent de déterminer l'impédance de la plaie tandis que celles H1 et H2 servent à mesurer l'impédance de la peau saine

L'électrode Wx permet de tester la configuration pour laquelle les deux électrodes de mesure sont positionnées sur la plaie.

Les mesures d'impédance sont réalisées sur un spectre allant de 10 Hz à 100 kHz.

La figure suivante synthétise les différentes mesures d'impédance qu'ils ont effectuées (Figure 36).

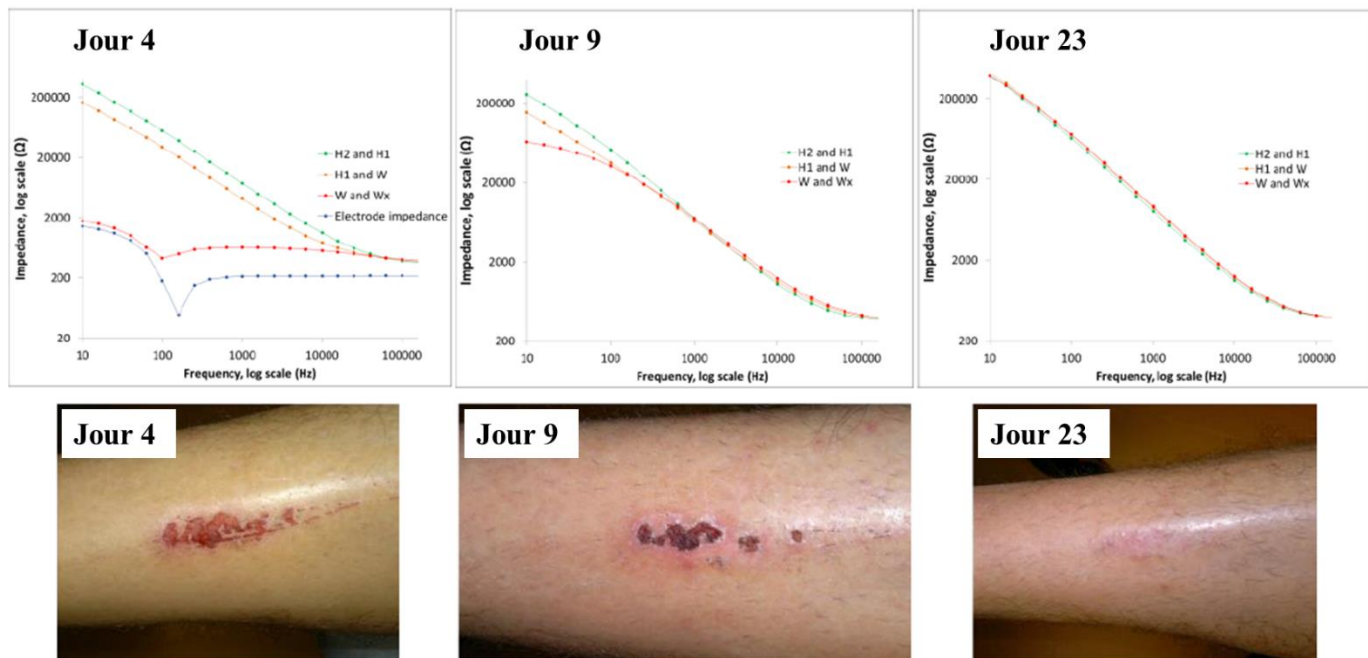


Figure 36 : Résultats de spectroscopie d'impédance sur peau saine et plaie. Au jour 4, la plaie est ouverte et au Jour 23 cette dernière est fermée.

La figure précédente (Figure 36) met clairement en exergue la différence d'impédance entre une plaie ouverte (Jour 4) et une plaie quasiment cicatrisée (Jour 23). La courbe verte représente l'impédance de la peau saine (Électrodes H1 et H2 Figure 35). Il s'agit, pour cette étude, de la mesure de référence. La courbe orange correspond à la caractérisation électrique de la plaie à l'aide des électrodes H1 et W (Figure 35). Enfin, la courbe rouge décrit l'impédance mesurée à l'aide des électrodes W et Wx positionnées sur la plaie. Cette courbe met clairement en évidence la chute d'impédance (Jour 4) d'une peau lésée comparée à une peau saine, avec un facteur 100 entre les deux mesures.

Ils ont également constaté sur ces spectres d'impédance que celui de la plaie au Jour 4 entre les électrodes H1 et W était égal à la moitié de celui de référence (peau saine) pour une fréquence de 10 Hz.

La plaie a clairement commencé à cicatriser au Jour 9. En effet, l'impédance de la plaie a augmenté significativement (entre W et Wx) tendant vers la valeur de référence notamment pour la gamme de fréquences comprise entre 1 kHz et 100 kHz.

Finalement, Kekonen A. *et al.* ont démontré que la mesure d'impédance est un outil viable pour l'évaluation quantitative de l'état d'une plaie. Le suivi superficiel de plaie via une méthode de mesure bipolaire est adapté au suivi de cicatrisation. En outre, ils ont également observé que la sélection de la fréquence peut jouer un rôle important dans la détection de changements précoces au sein de la plaie [154].

L'équipe de Kekonen A., à la suite de ces résultats prometteurs, a décidé d'éprouver la spectroscopie d'impédance au travers le suivi de cicatrisation de quatre plaies.

Tableau 4 : Caractéristiques des différentes expériences menées

	Cas 1	Cas 2	Cas 3	Cas 4
Type de plaie	Piqûre d'aiguille	Plaie par grattage de l'épiderme	Plaie par grattage de l'épiderme	Plaie post-traumatique
Taille de la plaie	0,35 mm (diamètre)	≈ 3 mm (diamètre)	≈ 3 mm (diamètre)	≈ 70 mm × 20 mm
Profondeur de la plaie	≈ 5 mm	Derme	Derme	Derme / Sous-cutané
Durée du suivi (jours)	1	6	23	93 (contrôle 147)
Méthode de mesure	Bipolaire			
Équipement	Solartron 1260A associé au Solartron 1294A			
Fréquences de mesure	10 Hz, 100 Hz, 1 kHz, 2,5 kHz, 6,3 kHz, 10 kHz, 25 kHz, 40 kHz, 63 kHz et 100 kHz			

Une mesure bipolaire de bioimpédance est réalisée sur chacune des plaies du Tableau 4 selon le positionnement suivant (Figure 37).



Figure 37 : Placement des diverses électrodes de mesure : S1 et S2 sont positionnées sur de la peau saine ; l'impédance de la plaie est mesurée avec S1 et W.

L'impédance des électrodes a été mesurée puis soustraite aux différentes mesures.

Afin de suivre la cicatrisation de la plaie, deux paramètres sont calculés. Le premier correspond au rapport d'impédance entre la plaie Z_W^{S1} et des tissus sains Z_{S1}^{S2} :

$$Z_{Ratio}(\%) = \frac{Z_W^{S1}(f_n)}{Z_{S1}^{S2}(f_n)}$$

Dans la formule précédente, les fréquences f_n font référence à celles du tableau Tableau 4.

Le second décrit l'état de la plaie. Il est défini par la formule suivante :

$$Etat\ plaie\ (\%) = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{Z_W^{S1}(f_i)}{Z_{S1}^{S2}(f_i)}}{n}$$

L'ensemble des fréquences correspond à celles du Tableau 4 et à trois fréquences supplémentaires : 2,5 kHz, 10 kHz et 40 kHz.

Les conclusions sur les quatre plaies sont les suivantes :

Cas 1 : Plaie par piqure d'aiguille

A 10 Hz, l'impédance de la plaie est significativement inférieure à celle de la peau saine ($Z_{Ratio} = 77\%$). Aux fréquences suivantes, il n'y a plus de différence entre ces deux impédances.

Cas 2 et 3 : Plaie par grattage de l'épiderme

Aucun retard de cicatrisation n'a été observé pour ces deux plaies.

Pour le cas 2, au cours des deux premiers jours de suivi de cicatrisation, la plus grande variation du paramètre Z_{Ratio} a été observée pour des fréquences comprises entre 1 kHz et 10 kHz. Après cela, même pour les basses fréquences, ce paramètre augmente de manière claire. Le paramètre Z_{Ratio} est supérieur à 100 % dès le premier jour du suivi.

Pour le cas 3, au cours des trois premiers jours de suivi, le changement le plus important a été observé pour des fréquences au-delà d'un kHz. Après le troisième jour, ce paramètre a augmenté, significativement, pour les fréquences les plus faibles.

Cas 4 : Plaie post-traumatique

Cette plaie s'est développée dans la partie inférieure du derme. Le suivi de cette plaie s'est étendu sur 93 jours. En outre, elle s'est également rouverte à plusieurs reprises pendant le premier mois du suivi. Une partie de la croûte a été retirée au 48^{ième} jour. Les mesures d'impédance qui en ont suivies ont montré une diminution du paramètre Z_{Ratio} pour la plupart des fréquences de mesure. Une croûte nouvellement reformée a été observée au 68^{ième} jour. La plaie s'est ensuite rouverte trois jours plus tard. Cette réouverture a pu être détectée grâce aux mesures d'impédance avec une décroissance marquée de Z_{Ratio} . La cicatrisation a continué par la suite sur un rythme plutôt soutenu. Au jour 79, la plaie était complètement guérie.

Ainsi, dans cette étude, Kekonen A. *et al.* ont pu évaluer la faisabilité de la spectroscopie d'impédance comme méthode objective de suivi de cicatrisation sur quatre plaies. Cette méthode se base sur les différences électriques entre tissus sains et endommagés.

La première plaie par aiguille leur a permis de montrer que même une blessure de petite taille (diamètre de l'aiguille : 0,35 mm) peut affecter la mesure de bioimpédance. L'impédance de la

plaie est inférieure à celle de la peau saine uniquement aux fréquences faibles malgré une pénétration de 5 mm. Selon eux, cela pourrait être provoqué par la faible surface de la plaie.

Les deux plaies obtenues par grattage de l'épiderme ont cicatrisé dans un laps de temps normal. Cette blessure leur a permis de mettre en évidence la ré-épithélialisation au travers la variation du paramètre Z_{Ratio} . En outre, les variations les plus significatives ont été observées pour les hautes fréquences. La fréquence influe directement la profondeur de mesure [155]. Ces variations pourraient, ainsi, donner des informations sur l'état des couches sous la plaie. Enfin, l'impédance, lors des dernières phases de la cicatrisation fut très proche ou légèrement supérieure à celle de la peau saine. Selon eux, ceci pourrait s'expliquer par la présence d'une cicatrice (structure, teneur en eau du tissu cicatriciel nouvellement formé).

La blessure post-traumatique (Cas 4) a été suivie pendant 93 jours. Ils ont observé, au cours du premier mois, que la guérison de cette plaie a été particulièrement lente. De plus, un tissu de granulation s'est développé et la ré-épithélialisation n'a pas eu lieu en temps voulu. La plaie s'est, également, rouverte plusieurs fois. Une augmentation progressive du paramètre Z_{Ratio} a été observée pour les fréquences supérieures à 40 kHz. Ils ont émis comme hypothèse que la formation d'un tissu de granulation à la base de la plaie et la cicatrisation des tissus superficiels pouvaient être la source de cette variation.

Au cours du second mois de suivi, une contraction de la plaie depuis sa périphérie a été observée. Ils ont toujours positionné l'électrode de plaie W (Figure 37) sur la plaie ouverte. En parallèle, un néo-épiderme se renforçant progressivement a commencé à se développer sur toute la surface de la plaie. Ainsi, le 48^{ième} jour, une croûte s'était développée. Le quotient Z_{Ratio} a augmenté systématiquement jusqu'à cette date. Ils ont ensuite retiré cette croûte. Ils ont attendu une semaine avant de réaliser les caractérisations suivantes (Jour 56). Le paramètre Z_{Ratio} est légèrement plus faible qu'avant le retrait de la croûte.

Une cicatrisation rapide a été observée au cours du troisième mois de suivi. Une croûte s'est, de nouveau, développée au 68^{ième} jour. En revanche, cette fois-ci, la croûte est épaisse et sèche. Les mesures d'impédance indiquent une augmentation significative de Z_{Ratio} . Cette croûte est enlevée au jour 68. Ceci a provoqué une diminution importante des valeurs du paramètre Z_{Ratio} particulièrement pour les fréquences les plus faibles. Sous la croûte, le néo-épithélium s'est renforcé et la plaie a continué de se rétracter. A partir de ce moment, la cicatrisation s'est faite rapidement jusqu'à ce que la plaie soit recouverte d'une cicatrice.

Ainsi, dans cette étude, ces chercheurs ont pu mettre en évidence à travers l'étude de la cicatrisation de quatre plaies, l'impédance comme outil prometteur pour décrire l'état d'une plaie et pour en suivre la cicatrisation.

En 2019, Harvey J. R. *et al.* ont, pendant leurs travaux, montré qu'il existait une relation significative entre changements de bioimpédance et l'intensité de charge exercée sur la peau. En outre, ils ont été capables de mettre en évidence une corrélation entre impédance et la stadification des lésions de pression basée notamment sur l'utilisation de seuils sur le module, la phase de l'impédance et la combinaison des deux [156]. Deux fréquences ont été sélectionnées 40 et 25 kHz. Pour réaliser l'ulcère de pression, ils ont utilisé un modèle particulier. Les lésions de pression ont été réalisées sur des rats car il présente notamment une

surface dorsale plus importante que les souris par exemple. Ces derniers sont incisés bilatéralement pour insérer deux disques en acier inoxydable. L'un des flancs sert de contrôle. Sur l'autre flanc, un aimant adossé à un capteur de pression permet de provoquer les lésions cutanées. Le capteur permet de mesurer la pression engendrée. Ce modèle d'escarre plus invasif, à la différence de celui utilisant deux aimants pour pincer seulement la peau de la région dorsale [157], comprime le muscle grand dorsal. Ce modèle se veut plus réaliste. En effet, le stress mécanique est plus important dans les muscles se trouvant à proximité des proéminences osseuses que dans les couches constitutives de la peau [158].

5. Traitement des escarres

5.1. Diffusion d'actifs dans la peau

Innover dans les systèmes d'administration de médicaments est une stratégie clé pour améliorer notamment la biodisponibilité du médicament. Jusqu'à présent, l'administration par voie orale reste celle la plus répandue car elle offre de nombreux avantages comme la variété des formes de dosage, l'auto-administration, l'aspect sécuritaire, la facilité d'administration, ou encore l'observance du patient [159]. Cependant, cette technique d'administration présente quelques limitations comme, par exemple la faible stabilité du médicament lors du passage dans le système digestif. En outre, la molécule médicamenteuse peut être dégradée notamment à cause de l'acidité de l'estomac [160]. La biodisponibilité du médicament peut aussi être compromise par le manque de perméabilité de la membrane intestinale freinant son absorption systémique [161]. Ces désagréments sont surtout observés pour les médicaments basés sur des protéines ou sur des peptides [162]. Ainsi, l'injection intraveineuse est l'une des voies d'administration les plus prometteuses pour ce type de médicaments (protéines et peptides) parce qu'elle permet une biodisponibilité de 100 % et l'absence de métabolisme hépatique [163]. Cette méthode présente de nombreux désavantages : elle est invasive la rendant douloureuse, diminuant l'observance du patient. Enfin, l'élimination des aiguilles souillées ajoute un coût non négligeable [164].

Les systèmes d'administration de médicaments transdermiques utilisent la peau comme site d'administration [165]. Le médicament administré est absorbé dans la circulation systémique via les vaisseaux sanguins de la peau et circule ensuite dans le corps [166]. Ces systèmes offrent de nombreux avantages comme d'être moins invasifs (certaines méthodes d'administration comme l'iontophorèse sont complètement non invasives), la facilité d'application et d'administration, la possibilité de réduire la fréquence d'administration [167]. Une grande variété de médicaments a pu être administrée par l'intermédiaire de cette technologie qu'il s'agisse de composés hydrophobes ou hydrophiles. En raison de tous les bénéfices susmentionnés, on comprend pourquoi cette technologie a aiguisé la curiosité des chercheurs des groupes pharmaceutiques. Ces derniers s'intéressent à la mise au point et à l'étude de tels systèmes et notamment ceux permettant de modifier l'ouverture de la couche cornée afin d'améliorer la perméation du médicament à travers la peau.

La peau est la première couche de protection du corps contre les agressions extérieures qu'elles soient mécaniques, chimiques ou physiques [168]. Il s'agit, également, de l'organe du corps avec la surface la plus importante de l'ordre approximativement de 2 m² [169]. Elle représente environ 16 % de la masse totale d'un adulte [170]. La peau, à cause de la concentration élevée en mélanine, a également une fonction de protection contre les ultraviolets (UV) provenant du soleil [171]. De plus, une autre fonction de la peau est de maintenir l'homéostasie par le biais du système de thermorégulation [172]. Transpirer est un des mécanismes de thermorégulation de la peau humaine [173].

Les chercheurs se servent de la peau comme site principal d'administration d'une grande variété de médicaments que ce soit pour une action locale ou systémique. En effet, le derme de la peau est très vascularisé, possédant de nombreux capillaires sanguins [174]. Une vue détaillée de la peau est présentée à la Figure 38.

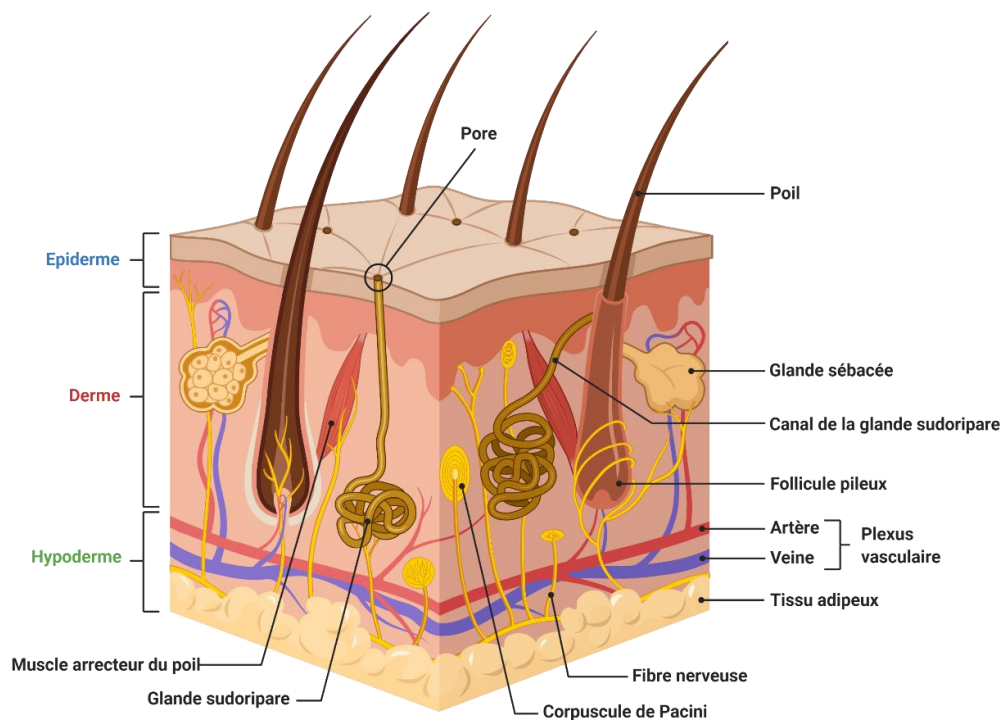


Figure 38 : Schéma de l'anatomie de la peau (Adapté de "Anatomy of the skin", par BioRender.com (2021))

L'épiderme est la couche la plus externe de la peau (Figure 38). Son épaisseur est comprise entre 60 µm et 100 µm. Cette dernière dépend de la zone du corps humain [175]. L'épiderme est constitué de cinq couches comme présenté à la figure suivante (Figure 39).

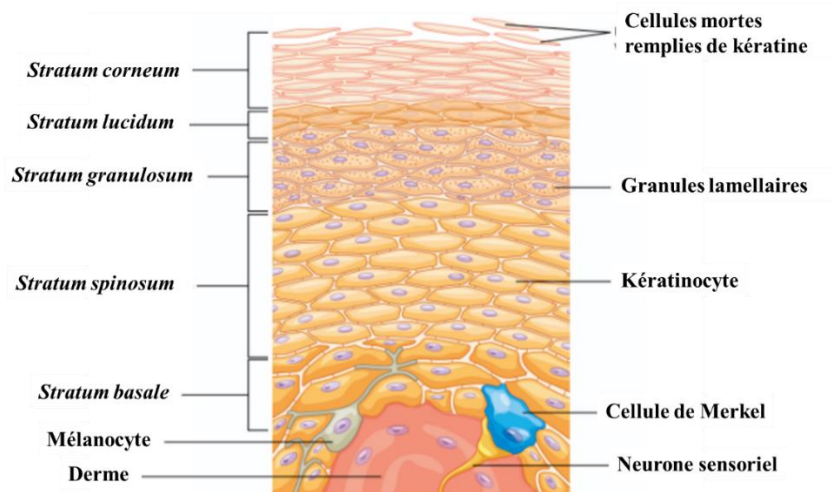


Figure 39 : Représentation schématique de la structure épidermique de la peau humaine [175]

La première couche est le *stratum corneum*. Il s'agit de la couche la plus superficielle de l'épiderme. La couche cornée a une épaisseur comprise entre 10 et 30 μm [176]. Elle est constituée d'un empilement de plusieurs couches cellulaires. Ce nombre de couches dépend des zones du corps : entre 7 et 11 pour le visage ou encore entre 60 et plus d'une centaine pour le talon [177]. Cette première couche de l'épiderme se régénère toutes les quatre semaines [178]. Le *stratum corneum* est caractéristique de la maturation et du développement des kératinocytes. En effet, ces derniers proviennent de la couche basale de l'épiderme et peuvent proliférer. Au fur et à mesure de cette maturation, ces cellules perdent leur caractère prolifératif. De plus, elles subissent une destruction programmée. Ces kératinocytes ainsi différenciés et énucléés deviennent des cornéocytes ou cellules cornées. Ce phénomène s'appelle la kératinisation. C'est aussi pourquoi le *stratum corneum* est souvent désigné par le terme de couche cornée. Les kératinocytes finalement différenciés ne sont constitués que de filaments de kératine inclus dans une matrice de filaggrine. Les membranes cellulaires des kératinocytes sont remplacées par des enveloppes lipidiques cornées. Les cellules s'aplatissent, se relient les unes aux autres grâce aux cornéodesmosomes. Ceci crée un empilement de couches pour former le *stratum corneum*.

Sous ce dernier, se trouve une couche de peau claire et fine, le *stratum lucidum*. Il s'agit de deux voire trois couches de kératinocytes. Il ne se trouve que dans les doigts, les paumes et la plante des pieds [179]. Les cornéocytes morts du *stratum corneum* proviennent de cette strate de l'épiderme.

La couche suivante sous le *stratum lucidum* est le *stratum granulosum*. Dans cette couche, les cellules ont une membrane plus épaisse. Le *granulosum* provient des granules des cellules vivantes qui sont formés par accumulation de kératohyaline [180], une structure protéique présente dans les granules.

Le *stratum spinosum* est la couche située en dessous du *stratum granulosum* qui consiste en un empilement de 8 à 10 couches de kératinocytes [181]. Dans cette couche, les desmosomes jouent le rôle de « connecteurs » entre les cellules d'où le nom souvent employé de couche

« épineuse » [182]. Dans cette couche, on peut trouver des cellules présentatrices d'antigène appelées cellules de Langerhans [183]. Ces dernières constituent une des premières défenses immunitaires. En effet, elles doivent englober les bactéries, les cellules endommagées ou encore toutes particules exogènes par phagocytose.

Enfin, la dernière couche, la plus profonde de l'épiderme, est le *stratum basal*. Ce dernier est en contact avec le derme. Ce contact est maintenu grâce à des fibres collagènes. En outre, dans le *stratum basal*, les kératinocytes prolifèrent, se différencient et migrent ensuite dans le *stratum corneum* [184]. Dans cette zone-là, se trouvent, également, des cellules de Merkel, cellules nerveuses associées au système sensoriel (toucher) [185].

Dans ce système tégumentaire qu'est la peau, la couche suivante est le derme. Ce dernier se compose de deux couches [186] : la couche papillaire et réticulaire. La première regroupe les vaisseaux sanguins, les capillaires lymphatiques, ou encore les adipocytes [187]. La seconde couche est plus dense car elle contient des fibres collagènes [188]. Ainsi, ces dernières donnent les caractéristiques élastiques à cette couche la permettant de garder ses fonctions lors de mouvement. En outre, il joue aussi un rôle majeur dans la fonction immunitaire à cause, notamment, de la présence de cellules immunitaires spécialisées telles que diverses sous-populations de cellules dendritiques, des macrophages ou des lymphocytes T [189].

Enfin, la dernière couche de la peau, celle qui est la plus profonde est l'hypoderme. Cette couche sert de liaison entre la peau, les muscles et les os. De plus, l'abondance de tissu adipeux dans l'hypoderme offre une isolation thermique afin de protéger le corps contre le froid [190].

La peau constitue un candidat idéal comme site d'administration de médicament. En effet, la surface de cet organe est très importante. A la suite de l'application sur la peau de formes galéniques contenant le médicament, ce dernier doit se diffuser dans la peau. Cependant, réussir à administrer un médicament via la peau est un challenge à relever à cause, principalement, du *stratum corneum* [191]. Structurellement, ce dernier peut être décrit par un modèle de type « brique » et « mortier » (Figure 39). Les briques sont représentées par les cornéocytes morts (principalement composés de kératine réticulée) tandis que les lipides (principalement du cholestérol, des acides gras et des céramides) sont le mortier. Ces lipides comblent les espaces intercellulaires [192]. Pour que les médicaments puissent être absorbés dans le système sanguin, ils doivent, d'abord, pénétrer dans la peau via cette architecture moléculaire.

L'absorption de médicament à partir de la peau en passant par le *stratum corneum* peut se faire par plusieurs voies possibles (Figure 40).

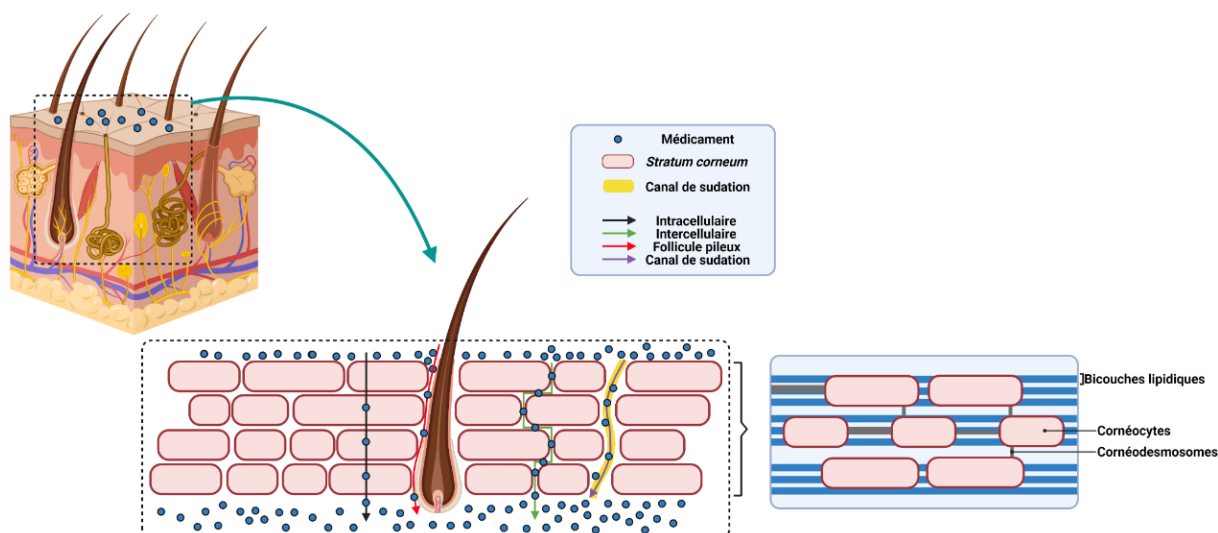


Figure 40 : Schéma des différents mécanismes d'administration transdermique de médicaments et structure caractéristique de type brique (cornéocytes) et mortier (lipides)
(Créée avec BioRender.com)

La principale voie d'absorption est la voie transépidermique [193]. Le médicament peut pénétrer dans le *stratum corneum* soit via les cellules (intracellulaire Figure 40), soit via les espaces entre les cellules (intercellulaire Figure 40) ou via des voies de « dérivation » : glandes sudoripares ou follicules pileux (Canal de sudation et follicule pileux Figure 40). Lors du passage intracellulaire, les médicaments doivent passer à travers les membranes cellulaires qui sont composées de bicouches lipidiques [194]. Cette voie est empruntée, principalement, par les molécules hydrophobes à cause des propriétés hydrophobes des complexes lipidiques des membranes des cellules du *stratum corneum* [195]. La deuxième voie d'administration est la voie intercellulaire. Les médicaments doivent diffuser à travers la matrice lipidique du *stratum corneum*. Les molécules de petite taille ainsi que les composés hydrophiles diffusent via cette voie pour atteindre, finalement, les capillaires sanguins [196].

Enfin, la dernière voie d'administration est celle via les glandes sudoripares ou les follicules pileux [197]. Celle-ci permet le transport de molécules polaires ou ionisées. En outre, elle peut aussi être utile pour le transport de grandes macromolécules qui rencontrent des difficultés à passer à travers les cellules épidermiques notamment à cause de leurs tailles [191].

Même si la compréhension des facteurs au niveau moléculaire qui affectent la pénétration cutanée reste encore incomplète, il semblerait que les molécules ayant un faible poids moléculaire et un $\log P$ ou Log Kow (logarithme de la concentration relative de la molécule lorsqu'elle se répartit entre un système à deux phases, généralement eau et octanol) compris entre 0 et 5 soient facilement absorbables par le corps [198]. En outre, des molécules avec un $\log P$ inférieures à 2 sont plus conseillées [199]. Cependant, en dépit de cette théorie, certaines molécules avec un poids moléculaire relativement élevé et un $\log P$ relativement élevé peuvent traverser la peau dans une certaine mesure [200]. Cette voie d'absorption est un peu limitée car la surface d'absorption est faible, de l'ordre en moyenne de 0,1 % [201] surtout comparée à

celle disponible pour la voie transdermique. Cette surface peut varier en fonction des zones du corps comme au niveau du front par exemple [202].

Ainsi, de nombreuses recherches ont été menées afin d'améliorer l'absorption de médicaments en modifiant la structure du *stratum corneum* soit par une méthode chimique ou physique ou encore en combinant les deux. Les principales méthodes disponibles sont détaillées dans la partie suivante.

5.2. Méthodes d'administration d'actifs dans la peau

Nous allons passer en revue quelques-unes de ces méthodes en mettant l'accent sur celles physiques. Ces dernières comportant l'iontophorèse, l'électroporation, la sonophorèse ou les microaiguilles (Figure 41) ont été utilisés pour administrer une large gamme de produits thérapeutiques [191].

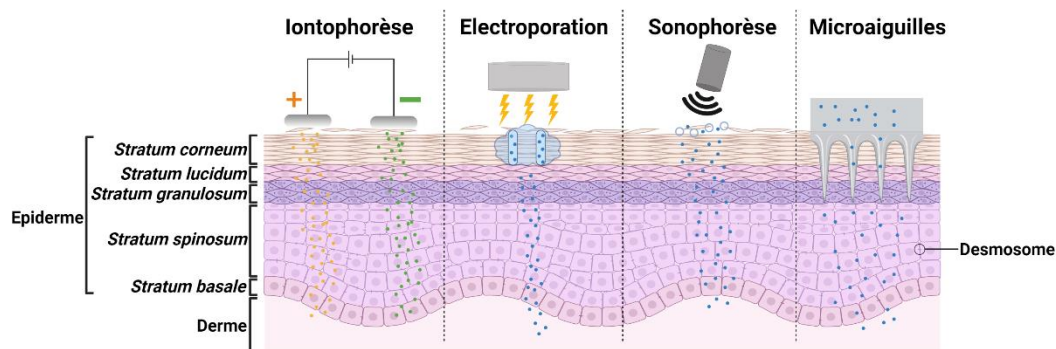


Figure 41 : Différents mécanismes physiques dopant la pénétration d'actifs thérapeutiques. Pour l'iontophorèse, les points orange et vert représentent respectivement les cations et les anions. Les points bleus correspondent aux molécules thérapeutiques. Dans le cas de la sonophorèse, les cercles bleus vides représentent des microbulles (Créée avec BioRender.com)

5.2.1. Iontophorèse et électroporation

Pendant un traitement iontophorétique, un faible courant continu (DC) ou alternatif (AC) est appliqué sur la peau pendant plusieurs minutes. La tension appliquée est généralement inférieure à 100 V avec une densité de courant typique de l'ordre de 500 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ [203]. L'iontophorèse ne modifie pas les propriétés du *stratum corneum*. Les molécules chargées sont transportées par le champ électrique généré (électromigration / électrorépulsion) et empruntent le chemin de plus faible résistance comme à travers les follicules pileux ou les glandes sudoripares [204] [205]. Il est possible de transporter aussi des molécules neutres en présence d'électrolytes grâce au flux électroosmotique de l'eau. En outre, ce flux peut s'avérer utile pour administrer des molécules chargées comme des peptides ou des protéines [206]. Ce dernier fait référence à un flux d'eau de l'anode vers la cathode sous l'influence d'un champ électrique. Le

mouvement d'ions chargés positivement comme les ions sodium est particulièrement favorisé par la peau chargée négativement [207].

L'électroporation fait référence à l'utilisation de tensions élevées supérieures à 100 V pour la peau (entre 0,3 V et 1,0 V pour les cellules) appliquées pendant de courtes durées [208], moins d'une centaine de millisecondes. Le principe de cette technique repose sur l'exposition d'une solution déposée sur la peau contenant une molécule spécifique à des impulsions afin de perturber de manière réversible le *stratum corneum* [209]. Ces impulsions vont générer des pores aqueux dans la bicouche lipidique du *stratum corneum*. Cela permet la pénétration de médicament dans les couches profondes de la peau par les pores créés. Cette technique d'administration peut être utilisée pour des molécules de grande taille comme les protéines ou les peptides [210] [211]. La perturbation est limitée au *stratum corneum* où la résistance est bien supérieure de plusieurs ordres de grandeur au reste des couches de la peau. Ces changements structuraux au niveau du *stratum corneum* sont généralement réversibles et, d'un point de vue toxicologique, insignifiant [211]. Cependant, de longues périodes d'électroporation peuvent s'avérer toxiques et provoquer des dommages étendus et irréversibles. En outre, ce mécanisme d'administration souffre de quelques désavantages : la nécessité d'utiliser une instrumentation coûteuse et sophistiquée, des moyens d'application qui peuvent être longs et compliqués. De plus, seul un personnel rigoureusement formé peut être en mesure de réaliser le traitement. Enfin, elle présente également comme désavantages : la faible quantité de médicament délivré à cause de la faible surface des pores aqueux générés ou encore la possibilité d'endommager les cellules à cause des hautes tensions appliquées [212].

5.2.2. Sonophorèse

La sonophorèse est un mécanisme d'administration basé sur l'utilisation d'ultrasons. Ces derniers correspondent à des ondes sonores dont la fréquence est supérieure à 20 kHz. La pénétration de ces ondes est inversement proportionnelle à la fréquence [213]. L'amélioration de la pénétration du médicament est obtenue par cavitation. Des bulles se forment, oscillent et s'effondrent à l'interface formulation/tissu ou dans le tissu [214]. En plus de ce mécanisme de cavitation qui améliore la pénétration de l'actif, les ultrasons provoquent un échauffement local de la peau. Ces effets thermiques améliorent également la pénétration de l'actif dans la peau [215]. Dans la sonophorèse, la solution est positionnée sous la sonde à ultrasons puis une onde ultrasonore à une fréquence prédéterminée est envoyée sur la formulation et la peau [216]. L'administration de médicaments par sonophorèse dépend de plusieurs facteurs : mode d'ultrason, fréquence, intensité ou propriétés physicochimiques de la formule [217].

Cette technique s'est montrée efficace pour diffuser une grande variété de médicaments. En effet, de nombreuses études ont montré la pertinence de cette méthode pour améliorer l'administration transdermique comme le kétoprofène [218], le fentanyl utilisé pour soulager la douleur de patient opéré ou atteint de cancer ou encore la caféine utilisée fréquemment pour le traitement de la lipodystrophie [219]. La faisabilité d'utiliser la sonophorèse comme moyen d'administration de l'insuline a été évaluée [220]. Cette technique a amélioré le passage de l'insuline comparé à une diffusion passive.

5.2.3. Microaiguilles

Les microaiguilles ont été utilisées pour favoriser l'administration de molécules chargées et de grande taille qui peuvent être difficiles à transporter autrement qu'en créant des microsilons dans la peau. Elles étaient fabriquées, au départ, en gravant du silicium [221]. Aujourd'hui, ces microaiguilles sont fabriquées avec une grande variété de matériaux : polymères biodégradables [222] ou encore du sucre [223].

Cette technologie diffère de l'injection sous-cutanée. En effet, les microaiguilles sont, en général, moins douloureuses car ne pénétrant que dans l'épiderme au lieu que dans tout le derme [224].

Il y a cinq principaux designs de microaiguilles : solides, creuses, enduites, qui peuvent se dissoudre et déformables. L'efficacité de chacun de ces designs a été largement évaluée au cours de nombreuses études [225]. Les microaiguilles sont disposées en réseau / patch pour en faciliter l'application. La gamme de densité d'aiguilles est assez large avec 200 aiguilles/cm² [226] ou 20000 aiguilles/cm² [227]. Les microaiguilles creuses permettent le passage de médicament stocké dans un réservoir tandis que les aiguilles pleines servent à créer des canaux microscopiques dans la peau. Le médicament peut être déposé sur des aiguilles [228] ou incorporé dans des aiguilles qui peuvent se dissoudre ou biodégradables comme l'hydroxy-propyl méthylcellulose [229].

Les patches à base de microaiguilles permettent d'administrer des macromolécules, des molécules hydrophiles, des vaccins [230], des médicaments hydrophiles et d'extraire du matériel génétique (ADN) [231].

Les médicaments administrés par ces microaiguilles peuvent pénétrer dans la circulation systémique en étant absorbés par les capillaires du derme.

Les principales limitations de cette technologie proviennent de l'inconfort de patient (score de douleur allant de 5 à 40 %) [232] et une charge médicamenteuse limitée [233]. Le premier désavantage peut être contourné en jouant sur les dimensions des microaiguilles. Le deuxième limite cette technologie à des médicaments très puissants nécessitant peu de charge.

Tableau 5 : Récapitulatif des différentes méthodes d'administration transdermique

Méthode	Avantages	Désavantages
Iontophorèse	Large spectre de molécules à disposition Possibilité d'arrêter immédiatement le traitement Contrôle de la quantité diffusée	Douleurs, irritation Inconfort et brûlures provoqués par l'électrolyse de l'eau
Electroporation	Efficaces pour les molécules de grande taille Permet un contrôle du taux de pénétration	Instrumentation coûteuse Doit être appliquée longtemps Dommages cellulaires

Sonophorèse	Permet un arrêt immédiat de l'administration du médicament Moins irritant Faible risque d'infection	Relativement compliqué Sensation de picotements et de brûlures Inconfort
Microaiguilles	Possibilité d'administrer de larges molécules Récupération rapide au niveau du site d'application comparée à une injection hypodermique	Inconfort Charge médicamenteuse limitée Application régulière peut provoquer des lésions tissulaires

6. Résumé et objectifs de la thèse

L'objectif global de ce travail est de proposer une solution complète permettant la prévention, la détection prématurée et le traitement des ulcères de pression sous la forme d'une matrice de capteurs de pression peu coûteuse et flexible et d'un patch transdermique pour la détection précoce par caractérisation électrique des tissus et le traitement des escarres via l'administration par iontophorèse d'un vasodilatateur.

Ce premier chapitre a permis de mettre en contexte les objectifs de la thèse ainsi que de fournir un état de l'art des techniques et méthodes permettant la prévention des escarres, la caractérisation de tissus biologiques et la diffusion d'actifs dans la peau en vue du développement d'un patch compact et peu coûteux.

L'utilisation de nappes actimétriques sur patients alités dans le but d'appréhender les zones pressurisées du corps d'un patient alité est efficace dans la prévention de l'apparition d'escarres en permettant d'alerter le personnel médical en cas de dépassement du seuil de déformation critique. Il existe plusieurs solutions commerciales présentant des performances suffisamment adaptées pour cette application.

Dans un premier temps, des capteurs de pression unitaires peu coûteux pouvant être utilisés soit sur le patch de détection et traitement soit sous forme de nappe constituée d'une matrice de capteurs ont été développés et caractérisés (Chapitre 2).

Ensuite, il a été question de travailler sur les deux blocs principaux d'un futur patch intelligent permettant la caractérisation de tissu vivant et le traitement de plaies ischémiques par diffusion transdermique de médicaments.

Le choix de technologie pour la caractérisation de tissus vivants s'est porté sur la spectroscopie d'impédance. Cette technique présente de nombreux avantages : elle est non invasive, sûre,

facile à réaliser. Les résultats sont obtenus immédiatement et les mesures peuvent être répétées autant de fois que désirées [234] (Chapitre 3).

L'iontophorèse a été sélectionnée comme méthode d'administration d'actifs pour le patch en raison de ses nombreux avantages en comparaison aux autres méthodes de diffusion d'actifs. Il s'agit en effet d'une méthode versatile (contrôle de la quantité d'actifs diffusés, large spectre de molécules utilisables), peu coûteuse à mettre en place et facilement intégrable dans un patch par l'utilisation d'électrodes conformable déportées (Chapitre 4).

Références

- [1] K. Järbrink, G. Ni, H. Sönnnergren, A. Schmidtchen, C. Pang, R. Bajpai et C. Josip, «The humanistic and economic burden of chronic wounds: a protocol for a systematic review,» *Systematic Reviews*, vol. 6, n° %115, 2017.
- [2] L. Gould, M. Stuntz, M. Giovannelli, A. Ahmad, R. Aslam, M. Mullen-Fortino, J. D. Whitney, J. Calhoun, R. S. Kirsner et G. M. M. Gordillo, «Wound healing society 2015 update on guidelines for pressure ulcers,» *Wound Repair Regen.*, 2015.
- [3] C. K. Sen, G. M. Gordillo, S. Roy, R. Kirsner, L. Lambert, T. K. Hunt, F. Gottrup, G. C. Gurtner et M. T. Longaker, «Human skin wounds: A major and snowballing threat to public health and the economy,» *Wound Repair Regen.*, vol. 17, n° %16, pp. 763-771, 2009.
- [4] G. S. Ashcroft, S. J. Mills et J. J. Ashworth, «Ageing and wound healing,» *Biogerontology*, vol. 3, p. 337–345, 2002.
- [5] F. Gottrup, «A specialized wound-healing center concept: importance of a multidisciplinary department structure and surgical treatment facilities in the treatment of chronic wounds,» *Am. J. Surg.*, vol. 187, n° %15A, 2004.
- [6] R. G. Frykberg et J. Banks, «Challenges in the Treatment of Chronic Wounds,» *Adv. Wound Care*, vol. 4, n° %19, pp. 560-582, 2015.
- [7] E. Borelli, G. Paolini, F. Antoniazzi, M. Barbiroli, F. Benassi, F. Chesani, L. Chiari, M. Fantini, F. Fuschini, A. Galassi, G. Giacobone, S. Imbesi, M. Licciardello, D. Loreti, M. Marchi, D. Masotti, P. Mello, S. Mellone et Mincolelli, «HABITAT: An IoT Solution for Independent Elderly,» *Sensors*, vol. 19, n° %15, 2019.
- [8] WHO, «Are you ready? What you need to know about ageing,» 2012. [En ligne]. Available: <https://www.who.int/world-health-day/2012/toolkit/background/en/>. [Accès le 2020].
- [9] R. Punj et R. Kumar, «Technological aspects of WBANs for health monitoring: a comprehensive review,» *Wireless Networks*, vol. 25, p. 1125–1157, 2019.
- [10] D. Yacchirema, D. Sarabia-Jácome, C. E. Palau et M. Esteve, «System for monitoring and supporting the treatment of sleep apnea using IoT and big data,» *Pervasive and Mobile Computing*, vol. 50, pp. 25-40, 2018.
- [11] J. Rahman, E. Nemati, M. Rahman, V. Nathan, K. Vatanparvar et J. Kuang, «Automated assessment of pulmonary patients using heart rate variability from everyday wearables,» *Smart Health*, vol. 15, 2020.

- [12] M.-H. Jun, S. Kim, B. Ku, J. Cho, K. Kim, H.-R. Yoo et J. U. Kim, «Glucose-independent segmental phase angles from multi-frequency bioimpedance analysis to discriminate diabetes mellitus,» *Scientific Reports*, vol. 8, 2018.
- [13] A. Pal, D. Goswami, H. E. Cuellar, B. Castro, S. Kuang et R. V. Martinez, «Early detection and monitoring of chronic wounds using low-cost, omniphobic paper-based smart bandages,» *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 117, pp. 696-705, 2018.
- [14] S. L. Swisher, M. C. Lin, A. Liao, E. J. Leeftang, Y. Khan, F. J. Pavinatto, K. Mann, A. Naujokas, D. Young, S. Roy, M. R. Harrison, A. Claudia Arias, V. Subramanian et M. M. Maharbiz, «Impedance sensing device enables early detection of pressure ulcers in vivo,» *Nature Communications*, vol. 6, 2015.
- [15] N. Van Damme, A. Van Hecke, E. Remue, K. Van den Bussche, Z. Moore, A. Gefen, S. Verhaeghe et D. Beeckman, «Physiological processes of inflammation and edema initiated by sustained mechanical loading in subcutaneous tissues: A scoping review,» *Wound Repair and Regeneration*, vol. 28, 2019.
- [16] T. A. Mustoe, K. O'Shaughnessy et O. Kloeters, «Chronic Wound Pathogenesis and Current Treatment Strategies: A Unifying Hypothesis,» *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 117, 2006.
- [17] S. M. Niemiec, A. E. Louiselle, K. W. Liechty et C. Zgheib, «Role of microRNAs in Pressure Ulcer Immune Response, Pathogenesis, and Treatment,» *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, 2021.
- [18] Y. Saito, M. Hasegawa, M. Fujimoto, T. Matsushita, M. Horikawa, M. Takenaka, F. Ogawa, J. Sugama, D. A. Steeber, S. Sato et K. Takehara, «The Loss of MCP-1 Attenuates Cutaneous Ischemia-Reperfusion Injury in a Mouse Model of Pressure Ulcer,» *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 128, 2008.
- [19] P. Krzyszczyk, R. Schloss, A. Palmer et F. Berthiaume, «The Role of Macrophages in Acute and Chronic Wound Healing and Interventions to Promote Pro-wound Healing Phenotypes,» *Frontiers in Physiology*, 2018.
- [20] H.-S. J. Chew, E. Thiara, V. Lopez et S. Shorey, «Turning frequency in adult bedridden patients to prevent hospital-acquired pressure ulcer: A scoping review,» *International Wound Journal*, vol. 15, 2017.
- [21] S. M. Peirce, T. C. Skalak et G. T. Rodeheaver, «Ischemia-reperfusion injury in chronic pressure ulcer formation: A skin model in the rat,» *Wound Repair and Regeneration*, vol. 8, 2008.
- [22] I. f. Q. a. E. i. H. C. (IQWiG), «Pressure ulcers: Overview,» InformedHealth.org, 2006. [En ligne]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326428/>. [Accès le 2020].

- [23] L. E. Edsberg, J. M. Black, M. Goldberg, L. McNichol, L. Moore et M. Sieggreen, «Revised National Pressure Ulcer Advisory Panel Pressure Injury Staging System: Revised Pressure Injury Staging System,» *Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing*, vol. 43, 2016.
- [24] «Dermal wound: pressure sores. Philosophy of the IAET,» *J Enterostomal Ther.* , 1988.
- [25] J. D. Shea, «Pressure sores: classification and management,» *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1975.
- [26] S. Patel, «Controlling wound infection in the hospital and home,» *Wound Essentials*, vol. 1, 2012.
- [27] D. A. Potter, D. Veitch et G. A. Johnston, «Scarring and wound healing,» *British Journal of Hospital Medicine*, vol. 80, 2019.
- [28] A. Gosain et L. A. DiPietro, «Aging and Wound Healing,» *World Journal of Surgery volume*, vol. 28, 2004.
- [29] S. Guo et L. A. Dipietro, «Factors Affecting Wound Healing,» *Journal of Dental Research*, 2010.
- [30] S. Balaji, S. G. Keswani et T. M. Crombleholme, «The Role of Mesenchymal Stem Cells in the Regenerative Wound Healing Phenotype,» *Advances in Wound Care*, vol. 1, 2012.
- [31] T. J. Koh et L. A. DiPietro, «Inflammation and wound healing: The role of the macrophage,» *Expert Reviews in Molecular Medicine*, vol. 13, 2011.
- [32] T. A. Wilgus, S. Roy et J. C. McDaniel, «Neutrophils and Wound Repair: Positive Actions and Negative Reactions,» *Advances in Wound Care*, vol. 2, 2013.
- [33] M. Xue et C. J. Jackson, «Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring,» *Advances in Wound Care*, vol. 4, 2015.
- [34] P. Senet, «Physiologie de la cicatrisation cutanée,» *EMC - Dermatologie*, 2007.
- [35] L. E. Edsberg, J. M. Black, M. Goldberg, L. McNichol, L. Moore et M. Sieggreen, «Revised National Pressure Ulcer Advisory Panel Pressure Injury Staging System: Revised Pressure Injury Staging System,» *J Wound Ostomy Continence Nurs*, vol. 43, 2016.
- [36] D. Bader, C. Bouten, D. Colin et C. Oomens, *Pressure Ulcer Research - Current and Future Perspectives*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2005.
- [37] B. Brooks et G. W. Duncan, «Effects of pressure on tissues,» *Arch Surg.*, 1940.
- [38] M. Kosiak, «Etiology and pathology of ischemic ulcers,» *Arch Phys Med Rehabil*, vol. 40, 1959.

- [39] D. R. K., P. D. L. et W. D. C., «Etiologic factors in pressure sores: an experimental model,» *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 1981.
- [40] K. Groth, «Clinical observations and experimental studies of the pathogenesis of decubitus ulcers,» *Acta Chir Scand*, vol. 87, 1942.
- [41] T. Husain, «An experimental study of some pressure effects on tissues, with reference to the bed-sore problem,» *The Journal of Pathology and Bacteriology*, vol. 66, 1953.
- [42] M. Kosiak, «Etiology of decubitus ulcers,» *Arch Phys Med Rehabil*, 1961.
- [43] T. Defloor, «The risk of pressure sores: a conceptual scheme,» *Journal of Clinical Nursing*, vol. 8, 2001.
- [44] G. E. Miller et J. Seale, «Lymphatic Clearance during Compressive loading,» *Lymphology*, vol. 14, 1981.
- [45] N. Remoué, «Fragilité cutanée et cicatrisation retardée de l'ulcère de pression avec la neuropathie diabétique : Etude dans un modèle murin,» Université de Lyon, Thèse, 2020.
- [46] G. T. Nola et L. M. Vistnes, «Differential response of skin and muscle in the experimental production of pressure sores,» *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 66, 1980.
- [47] C. V. C. Bouten, M. M. Knight, D. A. Lee et D. L. Bader, «Compressive Deformation and Damage of Muscle Cell Subpopulations in a Model System,» *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 29, 2001.
- [48] N. Slomka et A. Gefen, «Relationship Between Strain Levels and Permeability of the Plasma Membrane in Statically Stretched Myoblasts,» *Annals of Biomedical Engineering volume*, vol. 40, 2012.
- [49] C. W. J. Oomens, D. L. Bader, S. Loerakker et F. Baaijens, «Pressure Induced Deep Tissue Injury Explained,» *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 43, 2015.
- [50] P. M. Siu, E. W. Tam, B. T. Teng, X. M. Pei, J. W. Ng, I. F. Benzie et A. F. Mak, «Muscle apoptosis is induced in pressure-induced deep tissue injury,» *Journal of Applied Physiology*, 2009.
- [51] L. A. de Wert, D. L. Bader, C. W. J. Oomens, L. Schoonhoven, M. Poeze et N. D. Bouvy, «A new method to evaluate the effects of shear on the skin,» *Wound Repair and Regeneration*, vol. 23, 2015.
- [52] S. M. Reichel, «Shearing force as a factor in decubitus ulcers in paraplegics,» *Journal of the American Medical Association*, 1958.

- [53] J. B. Reuler et T. G. Cooney, «The Pressure Sore: Pathophysiology and Principles of Management,» *Annals of Internal Medicine*, 1981.
- [54] C. Bouten, «Etiology and pathology of pressure sores: a literature review,» Eindhoven University of Technology, 1996.
- [55] D. Brienza, S. Antokal, L. Herbe, S. Logan, J. Maguire, J. Van Ranst et A. Siddiqui, «Friction-Induced Skin Injuries—Are They Pressure Ulcers?,» *Journal of Wound Ostomy & Continence Nursing*, vol. 42, 2015.
- [56] S. M. Dinsdale, «Decubitus ulcers: role of pressure and friction in causation,» *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 1974.
- [57] S. M. Dinsdale, «Decubitus ulcers in swine: light and electron microscopy study of pathogenesis,» *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 1973.
- [58] S. M. Peirce, T. C. Skalak et G. T. Rodeheaver, «Ischemia-reperfusion injury in chronic pressure ulcer formation: A skin model in the rat,» *Wound Repair and Regeneration*, vol. 8, 2008.
- [59] E. C. Herrman, C. F. Knapp, J. C. Donofrio et R. Salcido, «Skin perfusion responses to surface pressure-induced ischemia: implication for the developing pressure ulcer,» *Journal of Rehabilitation Research & Development*, 1999.
- [60] S. Tsuji, S. Ichioka, N. Sekiya et T. Nakatsuka, «Analysis of ischemia-reperfusion injury in a microcirculatory model of pressure ulcers,» *Wound Repair and Regeneration*, vol. 13, 2005.
- [61] Y. Saito, M. Hasegawa, M. Fujimoto, T. Matsushita, M. Horikawa, M. Takenaka, F. Ogawa, J. Sugama, D. A. Steeber, S. Sato et K. Takehara, «The Loss of MCP-1 Attenuates Cutaneous Ischemia-Reperfusion Injury in a Mouse Model of Pressure Ulcer,» *Journal of Investigative Dermatology Home*, vol. 128, 2008.
- [62] N. Bergstorm, «Patients at Risk for Pressure Ulcers and Evidence-Based Care for Pressure Ulcer Prevention,» chez *Pressure Ulcer Research - Current and Future Perspectives*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2005, pp. 35-50.
- [63] V. Mor, J. Morris, L. Lipsitz et B. Fogel, «Benchmarking Nursing Home Quality: The Q-Metrics System,» *Canadian Journal of Quality in Health Care* , 1998.
- [64] A. f. H. C. P. a. R. (DHHS/PHS), Pressure Ulcers in Adults: Prediction and Prevention. Clinical Practice Guideline Number 3, 1992.
- [65] J. Cuddigan, D. R. Berlowitz et E. A. Ayello, «PRESSURE ULCERS IN AMERICA: Prevalence, Incidence, and Implications for the Future: An Executive Summary of the National Pressure Ulcer Advisory Panel Monograph,» *Advances in Skin & Wound Care*, vol. 14, 2001.

- [66] R. M. Allman, P. S. Goode, M. M. Patrick, N. Burst et A. A. Bartolucci, «Pressure Ulcer Risk Factors Among Hospitalized Patients With Activity Limitation,» *JAMA*, vol. 273, 1995.
- [67] J. F. Schnelle, G. M. Adamson, P. A. Cruise, N. Al-Samarrai, F. C. Sarbaugh, G. Uman et J. G. Ouslander, «Skin Disorders and Moisture in Incontinent Nursing Home Residents: Intervention Implications,» *Journal of the American Geriatrics Society*, vol. 45, 1997.
- [68] N. Bergstrom, B. J. Braden, A. Laguzza et V. Holman, «The Braden Scale for Predicting Pressure Sore Risk,» *Nursing Research*, 1987.
- [69] T. V. Boyko, M. T. Longaker et G. P. Yang, «Review of the Current Management of Pressure Ulcers,» *Advances in Wound Care*, vol. 7, 2018.
- [70] N. Bergstrom, B. Braden, M. Kemp, M. Champagne et E. Ruby, «Predicting Pressure Ulcer Risk: A Multisite Study of the Predictive Validity of the Braden Scale,» *Nursing Research*, vol. 47, 1998.
- [71] D. L. Kring, «Reliability and Validity of the Braden Scale for Predicting Pressure Ulcer Risk,» *Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing*, vol. 34, 2007.
- [72] R. Jalali et M. Rezaie, «Predicting Pressure Ulcer Risk: Comparing the Predictive Validity of 4 Scales, Comparing Norton, Braden and Waterlow risk assessment scales for pressure ulcers in spinal cord injuries,» *Advances in Skin & Wound Care*, vol. 18, 2005.
- [73] L. McNichol, C. Watts, D. Mackey, J. M. Beitz et M. Gray, «Identifying the Right Surface for the Right Patient at the Right Time: Generation and Content Validation of an Algorithm for Support Surface Selection,» *Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing*, vol. 42, 2015.
- [74] T. Krouskop et L. van Rijswijk, «Standardizing performance-based criteria for support surfaces,» *Ostomy/wound Management*, 1995.
- [75] D. Brienza, S. Kelsey, P. Karg, A. Allegretti, M. Olson, M. Schmeler, J. Zanca, M. J. Geyer, M. Kusturiss et M. Holm, «A Randomized Clinical Trial on Preventing Pressure Ulcers with Wheelchair Seat Cushions,» *Journal of the American Geriatrics Society*, vol. 58, 2010.
- [76] E. P. U. A. P. a. P. P. P. I. A. National Pressure Ulcer Advisory Panel, «Prévention et Traitement des Escarres: Guide de Référence Abrégé,» Cambridge Media, 2009.
- [77] S. Baranoski et E. A. Ayello, *Wound Care Essentials: Practice Principles*, Lippincott Williams & Wilkins, 2008.
- [78] B. C. P. N. S. & W. Committee, «Procedure: Wound Cleansing,» 2018.

- [79] G. D. Winter, «Formation of the Scab and the Rate of Epithelization of Superficial Wounds in the Skin of the Young Domestic Pig,» *Nature*, vol. 193, 1962.
- [80] C. D. Hinman et H. Maibach, «Effect of Air Exposure and Occlusion on Experimental Human Skin Wounds,» *Nature*, vol. 200, 1963.
- [81] S. Baranoski et E. A. Ayello, «Wound Dressings: An Evolving Art and Science,» *Advances in Skin & Wound Care*, vol. 25, 2012.
- [82] S. Baranoski, «Wound & Skin Care: Choosing a Wound Dressing, Part 1,» *Nursing*, 2008.
- [83] S. Baranoski, «Wound & Skin Care: Choosing a Wound Dressing, Part 2,» *Nursing*, 2008.
- [84] L. G. Ovington, «Chapter 12 Dressings and Skin Substitutes,» chez *Wound Healing Evidence-Based Management 4e*, Philadelphia, F. A. Davis Company, 2010.
- [85] L. Cuschieri, J. Deboz, P. Miiller et M. Celis, «Autolytic Debridement of a Large, Necrotic, Fully Occluded Foot Ulcer Using a Hydrocolloid Dressing in a Diabetic Patient,» *Advances in Skin & Wound Care*, 2013.
- [86] M. Armstrong et P. Price, «Wet-to-Dry Gauze Dressings: Fact and Fiction,» *Wounds: a Compendium of Clinical Research and Practice*, 2004.
- [87] J. C. Lawrence, «Dressings and Wound Infection,» *The American Journal of Surgery*, vol. 167, 1994.
- [88] J. J. Hutchinson, «Prevalence of wound infection under occlusive dressings: collective survey of reported research,» *Wounds*, 1989.
- [89] D. Okan, K. Woo, E. A. Ayello et G. Sibbald, «The Role of Moisture Balance in Wound Healing,» *Advances in Skin & Wound Care*, vol. 20, 2007.
- [90] T. V. Boyko, M. T. Longaker et G. P. Yang, «Review of the Current Management of Pressure Ulcers,» *Advances in Wound Care*, vol. 7, 2018.
- [91] M. Reddy, S. S. Gill, S. R. Kalkar, W. Wu, P. J. Anderson et P. A. Rochon, «Treatment of Pressure Ulcers A Systematic Review,» *JAMA*, 2008.
- [92] L. San Miguel, J.-E. Torra i Bou et J. Verdú Soriano, «Economics of pressure-ulcer care: review of the literature on modern versus traditional dressings,» *Journal of Wound Care*, vol. 16, 2013.
- [93] C. A. Fleck, «Why “Wet to Dry”?,» *The Journal of the American College of Certified Wound Specialists*, vol. 1, 2009.

- [94] X. Zheng et J. Li, «Comparison of the treatment of hydrocolloid and saline gauze for pressure ulcer: a meta-analysis of randomized controlled trials,» *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2016.
- [95] E. J. Kucharz, «The Skin and Wound Healing,» chez *The Collagens: Biochemistry and Pathophysiology*, Springer, Berlin, Heidelberg, 1992.
- [96] W. G. P. Eardley, S. A. Watts et J. C. Clasper, «Extremity Trauma, Dressings, and Wound Infection: Should Every Acute Limb Wound Have a Silver Lining?,» *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, 2012.
- [97] «Silver dressings – do they work?,» *Drug and Therapeutics Bulletin* , 2010.
- [98] X.-Q. He et H.-L. Chen, «Hydrocolloid vs Gauze Dressings in Treating Pressure Ulcers: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials,» *Wounds: a Compendium of Clinical Research and Practice*, 2014.
- [99] R. Dutra, G. Salomé, J. Alves, V. Pereira, F. Miranda, V. Vallim, M. de Brito et L. Ferreira, «Using transparent polyurethane film and hydrocolloid dressings to prevent pressure ulcers,» *Journal of Wound Care*, vol. 24, 2015.
- [100] J. C. Dumville, N. Stubbs, S. J. Keogh, R. M. Walker et Z. Liu, «Hydrogel dressings for treating pressure ulcers,» *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2015.
- [101] C. Huang, T. Leavitt, L. R. Bayer et D. P. Orgill, «Effect of negative pressure wound therapy on wound healing,» *Current Problems in Surgery*, vol. 51, 2014.
- [102] J. C. Dumville, J. Webster, D. Evans et L. Land, «Negative pressure wound therapy for treating pressure ulcers,» *Cochrane database of systematic reviews*, 2015.
- [103] G. M. Yarkony, *Spinal Cord Injury: Medical Management and Rehabilitation*, Aspen Publishers, 1994.
- [104] J. Schiffman, M. S. Golinko, A. Yan, A. Flattau, M. Tomic-Canic et H. Brem, «Operative Debridement of Pressure Ulcers,» *World Journal of Surgery*, 2009.
- [105] B. Cannon, J. J. O'Leary, J. W. O'Neh et R. Steinsieck, «An approach to the treatment of pressure sores,» *Annals of Surgery*, vol. 132, 1950.
- [106] L. Gould, P. Abadir, H. Brem, M. Carter, T. Conner-Kerr, J. Davidson, L. DiPietro, V. Falanga, C. Fife, S. Gardner, E. Grice, J. Harmon, W. Hazzard, K. High, P. Houghton, N. Jacobson, R. Kirsner, E. Kovacs et D. Margolis, «Chronic Wound Repair and Healing in Older Adults: Current Status and Future Research,» *Journal of the American Geriatrics Society*, vol. 63, 2015.
- [107] D. Bluestein et A. Javaheri, «Pressure Ulcers: Prevention, Evaluation, and Management,» *American Family Physician* , 2008.

- [108] R. A. Sherman, F. Wyle et M. Vulpe, «Maggot Therapy for Treating Pressure Ulcers in Spinal Cord Injury Patients,» *The Journal of Spinal Cord Medicine*, 1995.
- [109] E. Hidalgo, R. Bartolome et C. Dominguez, «Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness,» *Chemico-Biological Interactions*, 2002.
- [110] S. M. Levine, S. Sinno, J. P. Levine et P. B. Saadeh, «An evidence-based approach to the surgical management of pressure ulcers,» *Annals of Plastic Surgery*, 2012.
- [111] C. S. Smith, «Piezoresistance Effect in Germanium and Silicon,» *Phys. Rev.* , 1954.
- [112] Y. Zang, F. Zhang, C.-a. Di et D. Zhu, «Advances of flexible pressure sensors toward artificial intelligence and health care applications,» *Materials Horizons*, 2015.
- [113] T. Yang, D. Xie, Z. Li et H. Zhu, «Recent advances in wearable tactile sensors: Materials, sensing mechanisms, and device performance,» *Materials Science and Engineering: R: Reports*, vol. 115, pp. 1-37, 2017.
- [114] L. Pan, A. Chortos, G. Yu, Y. Wang, S. Isaacson, R. Allen, Y. Shi, R. Dauskardt et Z. Bao, «An ultra-sensitive resistive pressure sensor based on hollow-sphere microstructure induced elasticity in conducting polymer film,» *nature communications* , vol. 5, 2014.
- [115] C. Gerlach, D. Krumm, M. Illing, J. Lange, O. Kanoun, S. Odenwald et A. Hübner, «Printed MWCNT-PDMS-Composite Pressure Sensor System for Plantar Pressure Monitoring in Ulcer Prevention,» *IEEE Sensors Journal*, vol. 15, pp. 3647-3656, 2015.
- [116] Y. Ma, N. Liu, L. Li, X. Hu, Z. Zou, J. Wang, S. Luo et Y. Gao, «A highly flexible and sensitive piezoresistive sensor based on MXene with greatly changed interlayer distances,» *nature communications* , vol. 8, 2017.
- [117] M. L. Hammock, A. Chortos, B. C. Tee, J. B. Tok et Z. Bao, «25th Anniversary Article: The Evolution of Electronic Skin (E-Skin): A Brief History, Design Considerations, and Recent Progress,» *Advanced Materials*, vol. 25, 2013.
- [118] Y. Luo, Q. Xiao et B. Li, «A Stretchable Pressure-Sensitive Array Based on Polymer Matrix,» *Sensors*, vol. 17, 2017.
- [119] J. Kang, D. Son, G. N. Wang, Y. Liu, J. Lopez, Y. Kim, J. Y. Oh, T. Katsumata, J. Mun, Y. Lee, L. Jin, J. B. Tok et Z. Bao, «Tough and Water-Insensitive Self-Healing Elastomer for Robust Electronic Skin,» *Advanced Materials*, 2018.
- [120] K. Ke, M. McMaster, W. Christopherson, K. D. Singer et I. Manas-Zloczower, «Highly sensitive capacitive pressure sensors based on elastomer composites with carbon filler hybrids,» *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, vol. 126, 2019.

- [121] Z. Zhou, J. Li, W. Xia, X. Zhu, C. Cao, T. Sun et L. Zhang, «Enhanced piezoelectric and acoustic performances of poly(vinylidene fluoride-trifluoroethylene) films for hydroacoustic applications,» *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 22, 2020.
- [122] L. Persano, C. Dagdeviren, Y. Su, Y. Zhang, S. Girardo, D. Pisignano, Y. Huang et J. A. Rogers, «High performance piezoelectric devices based on aligned arrays of nanofibers of poly(vinylidene fluoride-co-trifluoroethylene),» *Nature Communications*, vol. 4, 2013.
- [123] J. A. Shepherd, B. Ng, M. J. Sommer et S. B. Heymsfield, «Body Composition by DXA,» *Bone*, vol. 104, 2017.
- [124] Y. H. Kim, E. K. Orenberg, K. F. Faull, N. G. Wade-Jardetzky et O. Jardetzky, «¹H NMR Spectroscopy: An Approach to Evaluation of Diseased Skin In Vivo,» *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 92, 1989.
- [125] M. D. Van Loan, K. R. Segal, E. F. Bracco, P. Mayclin et T. Van Itallie, «TOBEC methodology for body composition assessment: a cross-validation study,» *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 46, 1987.
- [126] F. Duck et T. Leighton, «Frequency bands for ultrasound, suitable for the consideration of its health effects,» *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 144, 2018.
- [127] H. Okawai, K. Kobayashi et S. Nitta, «An Approach to Acoustic Properties of Biological Tissues Using Acoustic Micrographs of Attenuation Constant and Sound Speed,» *Journal of Ultrasound in Medicine*, vol. 20, 2001.
- [128] H. Azhari, *Basics of Biomedical Ultrasound for Engineers*, John Wiley & Sons, 2010.
- [129] X. Jiang, W. T. Ng et J. Chen, «A Miniaturized Low-Intensity Ultrasound Device for Wearable Medical Therapeutic Applications,» *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems*, vol. 13, 2019.
- [130] A. Kletsov, A. Chernokalov, A. Khripkov, J. Cho et S. Druchinin, «Microwave non-contact imaging of subcutaneous human body tissues,» *Healthcare Technology Letters*, vol. 2, 2015.
- [131] J. Q. Brown, K. Vishwanath, G. M. Palmer et N. Ramanujam, «Advances in quantitative UV–visible spectroscopy for clinical and pre-clinical application in cancer,» *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 20, pp. 119-131, 2009.
- [132] U. Timm, G. Leen, E. Lewis, D. McGrath, J. Kraitl et H. Ewald, «Non-Invasive Optical Real-time Measurement of Total Hemoglobin Content,» *Procedia Engineering*, vol. 5, pp. 488-491, 2010.

- [133] R. van Veen, H. Sterenborg, A. Pifferi, A. Torricelli et R. Cubeddu, «Determination of VIS- NIR absorption coefficients of mammalian fat, with time- and spatially resolved diffuse reflectance and transmission spectroscopy,» *Biomedical Topical Meeting*, 2004.
- [134] G. M. Hale et M. R. Querry, «Optical Constants of Water in the 200-nm to 200- μ m Wavelength Region,» *Applied Optics*, vol. 12, pp. 555-563, 1973.
- [135] J. Q. M. Nguyen, C. Crouzet, T. Mai, K. Riola, D. Uchitel, L.-H. L. Liaw, N. Bernal, A. Ponticorvo, B. Choi et A. J. Durkin, «Spatial frequency domain imaging of burn wounds in a preclinical model of graded burn severity,» *Journal of Biomedical Optics*, vol. 18, 2013.
- [136] S. Fantini et A. Sassaroli, «Near-Infrared Optical Mammography for Breast Cancer Detection with Intrinsic Contrast,» *Annals of Biomedical Engineering volume*, vol. 40, 2012.
- [137] A. Currà, R. Gasbarrone, A. Cardillo, C. Trompetto, F. Fattapposta, F. Pierelli, P. Missori, G. Bonifazi et S. Serranti, «Near-infrared spectroscopy as a tool for in vivo analysis of human muscles,» *Scientific Reports* , vol. 9, 2019.
- [138] W. Song, S. Zhang, Y. Yang et L. Yang, «The System of Portable Fat Detector With Dual-wavelength Near-infrared Light,» *2009 3rd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering*, pp. 1-4, 2009.
- [139] A. Kienle et T. Glanzmann, «In vivo determination of the optical properties of muscle with time-resolved reflectance using a layered model,» *Physics in Medicine & Biology*, vol. 44, 1999.
- [140] A. Chaddad et C. Tanougast, «Low-Noise Transimpedance Amplifier Dedicated to Biomedical Devices: Near Infrared Spectroscopy System,» *2014 International Conference on Control, Decision and Information Technologies (CoDIT)*, pp. 601-604, 2014.
- [141] A. Bozkurt et B. Onaral, «Safety assessment of near infrared light emitting diodes for diffuse optical measurements,» *BioMedical Engineering OnLine* , vol. 3, 2004.
- [142] C. Ribaut, K. Reybier, O. Reynes, J. Launay, A. Valentin, P. L. Fabre et F. Nepveu, «Electrochemical impedance spectroscopy to study physiological changes affecting the red blood cell after invasion by malaria parasites,» *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 24, pp. 2721-2725, 2009.
- [143] F. Zhang, T. Jin, Q. Hu et P. He, «Distinguishing skin cancer cells and normal cells using electrical impedance spectroscopy,» *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 823, pp. 531-536, 2018.

- [144] H. P. Schwan et C. F. Kay, «The conductivity of living tissues,» *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1957.
- [145] F. Seoane, R. Macías, R. Bragós et K. Lindecrantz, «Simple voltage-controlled current source for wideband electrical bioimpedance spectroscopy: circuit dependences and limitations,» *Measurement Science and Technology*, vol. 22, 2011.
- [146] J. R. Harvey et Y. Mendelson, «A Portable Sensor for Skin Bioimpedance Measurements,» *International Journal of Sensors and Sensor Networks* , vol. 7, 2019.
- [147] D. Naranjo-Hernández, J. Reina-Tosina et M. Min, «Fundamentals, Recent Advances, and Future Challenges in Bioimpedance Devices for Healthcare Applications,» *Journal of Sensors*, 2019.
- [148] H. C. Lukaski et M. Moore, «Bioelectrical Impedance Assessment of Wound Healing,» *Journal of Diabetes Science and Technology*, 2012.
- [149] S. A. Weber, N. Watermann, J. Jossinet, J. A. Byrne, J. Chantrey, S. Alam, K. So, J. Bush, S. O'Kane et E. T. McAdams, «Remote Wound Monitoring of Chronic Ulcers,» *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine*, vol. 14, pp. 371-377, 2010.
- [150] S. A. Weber, C. Gehin, G. Moddy, J. Jossinet et E. T. McAdams, «Characterisation of a multi-frequency wound impedance mapping instrument,» *2008 30th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 2008.
- [151] F. Lu, C. Wang, R. Zhao, L. Du, Z. Fang, X. Guo et Z. Zhao, «Review of Stratum Corneum Impedance Measurement in Non-Invasive Penetration Application,» *Biosensors*, vol. 8, 2018.
- [152] C. S. Poon et T. T. Choy, «Frequency dispersions of human skin dielectrics,» *Biophysical Journal*, vol. 34, pp. 135-147, 1981.
- [153] D. Salter, «Examination of Stratum corneum Hydration State by Electrical Methods,» *Curr. Probl. Dermatol.*, vol. 26, 1998.
- [154] A. Kekonen, M. Bergelin, J.-E. Eriksson, H. Ylänen et J. Viik, «A Quantitative Method for Monitoring Wound Healing,» *International Journal of Bioelectromagnetism*, vol. 17, pp. 36-41, 2015.
- [155] Ø. G. Martinsen, S. Grimnes et E. Haug, «Measuring depth depends on frequency in electrical skin impedance measurements,» *Skin Research & Technology*, vol. 5, 1999.
- [156] J. R. Harvey, D. Sen, A. Baez, K. Hickie, H. Tessier, R. Slamin, R. Dunn, J. McNeill et Y. Mendelson, «Correlation of bioimpedance changes after compressive loading of murine tissues in vivo,» *Physiological Measurement*, vol. 40, 2019.

- [157] I. Stadler, R.-Y. Zhang, P. Oskoui, M. Whittaker et R. J. Lanzafame, «Development of a Simple, Non invasive Clinically Relevant Model of Pressure Ulcers in the Mouse,» *Journal of Investigative Surgery*, vol. 17, 2004.
- [158] E. Linder-Ganz, N. Shabshin, Y. Itzchak et A. Gefen, «Assessment of mechanical conditions in sub-dermal tissues during sitting: A combined experimental-MRI and finite element approach,» *Journal of Biomechanics*, vol. 40, pp. 1443-1454, 2007.
- [159] G. Kaur, M. Arora et M. Ravi Kumar, «Oral Drug Delivery Technologies-A Decade of Developments,» *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2019.
- [160] J. Van Den Abeele, J. Rubbens, J. Brouwers et P. Augustijns, «The dynamic gastric environment and its impact on drug and formulation behaviour,» *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 96, pp. 207-231, 2017.
- [161] S. Hua, «Advances in Oral Drug Delivery for Regional Targeting in the Gastrointestinal Tract - Influence of Physiological, Pathophysiological and Pharmaceutical Factors,» *Frontiers in Pharmacology*, 2020.
- [162] J. Shaji et V. Patole, «Protein and Peptide Drug Delivery: Oral Approaches,» *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2008.
- [163] A. Patel, K. Cholkar et A. K. Mitra, «Recent developments in protein and peptide parenteral delivery approaches,» *Therapeutic Delivery*, 2014.
- [164] S. E. Parker et P. G. Davey, «Pharmacoeconomics of Intravenous Drug Administration,» *PharmacoEconomics* , vol. 1, p. 103–115, 1992.
- [165] H. A. Benson, J. E. Grice, Y. Mohammed, S. Namjoshi et M. S. Roberts, «Topical and Transdermal Drug Delivery: From Simple Potions to Smart Technologies,» *Current Drug Delivery*, 2019.
- [166] M. R. Prausnitz et R. Langer, «Transdermal drug delivery,» *Nature Biotechnology* , vol. 26, 2008.
- [167] M. B. Brown, G. P. Martin, S. A. Jones et F. K. Akomeah, «Dermal and Transdermal Drug Delivery Systems: Current and Future Prospects,» *Drug Delivery*, vol. 13, 2006.
- [168] E. A. Brettmann et C. de Guzman Strong, «Recent evolution of the human skin barrier,» *Experimental Dermatology*, vol. 27, pp. 859-866, 2018.
- [169] R. D. Mosteller, «Simplified calculation of body-surface area,» *The New England Journal of Medicine*, 1987.
- [170] M. Leider, «On the Weight of the Skin,» *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 12, pp. 187-191, 1949.

- [171] M. Brenner et V. J. Hearing, «The Protective Role of Melanin Against UV Damage in Human Skin,» *Photochemistry and Photobiology*, vol. 84, pp. 539-549, 2007.
- [172] A. A. Romanovsky, «Skin temperature: its role in thermoregulation,» *Acta Physiologica*, vol. 210, pp. 498-507, 2014.
- [173] E. Arens et H. Zhang, «16-The skin's role in human thermoregulation and comfort,» chez *Thermal and Moisture Transport in Fibrous Materials*, Woodhead Publishing, 2006.
- [174] T. Yamaguchi, T. Ishikawa, Imai et Yohsuke, «4-Biomechanics for Pathology and Treatment,» chez *Integrated Nano-Biomechanics*, Elsevier, 2018, pp. 101-146.
- [175] J. Sandby-Møller, T. Poulsen et H. C. Wulf, «Epidermal Thickness at Different Body Sites: Relationship to Age, Gender, Pigmentation, Blood Content, Skin Type and Smoking Habits,» *Acta Dermato Venereologica*, vol. 83, 2003.
- [176] A. Böhlning, S. Bielfeldt, A. Himmelmann, M. Keskin et K. Wilhelm, «Comparison of the stratum corneum thickness measured in vivo with confocal Raman spectroscopy and confocal reflectance microscopy,» *Skin Research and Technology*, vol. 20, pp. 50-57, 2013.
- [177] Z. Ya-Xian, T. Suetake et H. Tagami, «Number of cell layers of the stratum corneum in normal skin – relationship to the anatomical location on the body, age, sex and physical parameters,» *Archives of Dermatological Research*, 1999.
- [178] L. M. Biga, S. Dawson, A. Harwell, R. Hopkins, J. Kaufmann, M. LeMaster, P. Matern, K. Morrison-Graham, D. Quick et J. Runyeon, «Layers of the Skin,» Oregon State University , [En ligne]. Available: <https://open.oregonstate.edu/aandp/chapter/5-1-layers-of-the-skin/>. [Accès le 01 2021].
- [179] H. Yousef, M. Alhajj et S. Sharma, *Anatomy, Skin (Integument), Epidermis*, StatPearls Publishing, 2020.
- [180] A. Rai et L. Pelkmans, «Liquid droplets in the skin,» *Science*, vol. 367, 2020.
- [181] J. G. Betts, K. A. Young, J. A. Wise, E. Johnson, B. Poe, D. H. Kruse, O. Korol, J. E. Johnson, M. Womble et P. DeSaix, *Anatomy and Physiology*, Houston, Texas: OpenStax, 2013.
- [182] «Layers of the Skin,» National Cancer Institute, [En ligne]. Available: <https://training.seer.cancer.gov/melanoma/anatomy/layers.html>. [Accès le 01 2021].
- [183] J. Fenner et R. A. Clark, «Anatomy, Physiology, Histology, and Immunohistochemistry of Human Skin,» chez *Skin Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, Academic Press, 2016, pp. 1-17.

- [184] T. Matsui et M. Amagai, «Dissecting the formation, structure and barrier function of the stratum corneum,» *International Immunology*, vol. 27, p. 269–280, 2015.
- [185] E. Growney Kalaf, K. Hixon, P. Kadakia, A. Dunn et S. Sell, «9-Electrospun Biomaterials for Dermal Regeneration,» chez *Electrospun Materials for Tissue Engineering and Biomedical Applications*, Woodhead Publishing, 2017, pp. 179-231.
- [186] T. M. Brown et K. Krishnamurthy, *Histology, Dermis*, StatPearls Publishing, 2020.
- [187] E. A. Shirshin, Y. I. Gurfinkel, A. V. Priezzhev, V. V. Fadeev, J. Lademann et M. E. Darwin, «Two-photon autofluorescence lifetime imaging of human skin papillary dermis in vivo: assessment of blood capillaries and structural proteins localization,» *Scientific Reports*, vol. 7, 2017.
- [188] W. N. Meigel, S. Gay et L. Weber, «Dermal Architecture and Collagen Type Distribution,» *Archives of Dermatological Research volume*, vol. 259, 1977.
- [189] A. Matejuk, «Skin Immunity,» *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, vol. 66, 2017.
- [190] E. LaMontGregory, «Thermoregulatory Aspects of Adipose Tissue,» *Clinics in Dermatology*, vol. 7, pp. 78-92, 1989.
- [191] R. Yang, T. Wei, H. Goldberg, W. Wang, K. Cullion et D. S. Kohane, «Getting Drugs Across Biological Barriers,» *Advanced Materials*, vol. 29, 2017.
- [192] M. Heisig, R. Lieckfeldt, G. Wittum, G. Mazurkevich et G. Lee, «Non steady-state descriptions of drug permeation through stratum corneum. I. The biphasic brick-and-mortar model,» *Pharmaceutical Research*, vol. 13, 1996.
- [193] A. Z. Alkilani, M. T. C. McCrudden et R. F. Donnelly, «Transdermal Drug Delivery: Innovative Pharmaceutical Developments Based on Disruption of the Barrier Properties of the stratum corneum,» *Pharmaceutics*, vol. 7, 2015.
- [194] K. W. Ng et W. M. Lau, «Skin deep: The basics of human skin structure and drug penetration,» chez *Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement*, Berlin, Springer, 2015.
- [195] D. D. N'Da, «Prodrug Strategies for Enhancing the Percutaneous Absorption of Drugs,» *Molecules*, vol. 19, 2014.
- [196] M. Sznitowska, S. Janicki et A. C. Williams, «Intracellular or Intercellular Localization of the Polar Pathway of Penetration Across Stratum Corneum,» *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 87, pp. 1109-1114, 1998.
- [197] A. Verma, A. Jain, P. Hurkat et S. K. Jain, «Transfollicular drug delivery: current perspectives,» *Research and Reports in Transdermal Drug Delivery*, vol. 5, 2016.

- [198] E. Milanetti, D. Raimondo et A. Tramontano, «Prediction of the permeability of neutral drugs inferred from their solvation properties,» *Bioinformatics*, p. 1163–1169, 2016.
- [199] A. C. Watkinson, M.-C. Kearney, H. L. Quinn, A. J. Courtenay et R. F. Donnelly, «Future of the transdermal drug delivery market--have we barely touched the surface?,» *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2016.
- [200] S. Szunerits et R. Boukherroub, «Heat: A Highly Efficient Skin Enhancer for Transdermal Drug Delivery,» *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2018.
- [201] R. Potts, «Skin Barrier: Principles of Percutaneous Absorption,» *Arch Dermatol.*, p. 1997.
- [202] N. Otberg, H. Richter, H. Schaefer, U. Blume-Peytavi, W. Sterry et J. Lademann, «Variations of Hair Follicle Size and Distribution in Different Body Sites,» *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 122, 2004.
- [203] N. Dixit, V. Bali, S. Baboota, A. Ahuja et J. Ali, «Iontophoresis - An Approach for Controlled Drug Delivery: A Review,» *Current Drug Delivery*, vol. 4, 2007.
- [204] J. Howard, T. Drake et D. Kellogg, «Effects of Alternating Current Iontophoresis on Drug Delivery,» *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 1995.
- [205] J. B. Sloan et K. Soltani, «Iontophoresis in dermatology: A review,» *Journal of American Academy of Dermatology*, vol. 15, pp. 671-684, 1986.
- [206] G. Krishnan, M. S. Roberts, J. Grice, Y. G. Anissimov, H. R. Moghimi et H. A. E. Benson, «Iontophoretic skin permeation of peptides: an investigation into the influence of molecular properties, iontophoretic conditions and formulation parameters,» *Drug Delivery and Translational Research*, 2013.
- [207] R. H. Guy, Y. N. Kalia, M. Delgado-Charro, V. Merino, A. López et D. Marro, «Iontophoresis: electrorepulsion and electroosmosis,» *Journal of Controlled Release*, vol. 64, 2000.
- [208] D. Morrow, P. McCarron, A. Woolfson et R. Donnelly, «Innovative Strategies for Enhancing Topical and Transdermal Drug Delivery,» *The Open Drug Delivery Journal*, 2007.
- [209] B. M. Medi, B. Layek et J. Singh, «7-Electroporation for Dermal and Transdermal Drug Delivery,» chez *Percutaneous Penetration Enhancers Physical Methods in Penetration Enhancement*, Springer, 2017.
- [210] C. Lombry, N. Dujardin et V. Pr  at, «Transdermal Delivery of Macromolecules Using Skin Electroporation,» *Pharmaceutical Research* , vol. 17, 2000.

- [211] A.-R. Denet, R. Vanbever et V. Pr  a, «Skin electroporation for transdermal and topical delivery,» *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 56, 2004.
- [212] A. Bolhassani, A. Khavari et Z. Orafa, «Electroporation – Advantages and Drawbacks for Delivery of Drug, Gene and Vaccine,» chez *Application of Nanotechnology in Drug Delivery*, IntechOpen, 2013.
- [213] V. S. Lucas, R. S. Burk, R. S. Burk et M. J. Grap, «Utility of High-Frequency Ultrasound: Moving Beyond the Surface to Detect Changes in Skin Integrity,» *Plastic Surgical Nursing*, vol. 34, pp. 34-38, 2014.
- [214] B. E. Polat, D. Hart, R. Langer et D. Blankschtein, «Ultrasound-Mediated Transdermal Drug Delivery: Mechanisms, Scope, and Emerging Trends,» *Journal of Controlled Release*, vol. 152, pp. 330-348, 2011.
- [215] G. Merino, Y. N. Kalia, M. B. Delgado-Charro, R. O Potts et R. H. Guy, «Frequency and thermal effects on the enhancement of transdermal transport by sonophoresis,» *Journal of Controlled Release*, vol. 88, pp. 85-94, 2003.
- [216] D. Park, G. Song, Y. Jo, J. Won, T. Son, O. Cha, J. Kim, B. Jung, H. Park, C.-W. Kim et J. Seo, «Sonophoresis using ultrasound contrast agents: dependence on concentration,» *PLOS ONE*, 2016.
- [217] R. Rao et S. Nanda, «Sonophoresis: recent advancements and future trends,» *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 61, 2009.
- [218] A. Herwadkar, V. Sachdeva, L. F. Taylor, H. Silver et A. K. Banga, «Low frequency sonophoresis mediated transdermal and intradermal delivery of ketoprofen,» *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 423, 2012.
- [219] A. Boucaud, L. Machet, B. Arbeille, M. C. Machet, M. Sournac, A. Mavon, F. Patat et L. Vaillant, «In vitro study of low-frequency ultrasound-enhanced transdermal transport of fentanyl and caffeine across human and hairless rat skin,» *International Journal of Pharmaceutics*, pp. 69-77, 2001.
- [220] N. B. Smith, S. Lee, E. Maione, R. B. Roy, S. McElligott et K. K. Shung, «Ultrasound-mediated transdermal transport of insulin in vitro through human skin using novel transducer designs,» *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 29, pp. 311-317, 2003.
- [221] F. Chabri, K. Bouris, T. Jones, D. Barrow, A. Hann, C. Allender, K. Brain et J. Birchall, «Microfabricated silicon microneedles for nonviral cutaneous gene delivery,» *British Journal of Dermatology*, vol. 150, pp. 869-877, 2004.
- [222] J.-H. Park, M. G. Allen et M. R. Prausnitz, «Biodegradable polymer microneedles: Fabrication, mechanics and transdermal drug delivery,» *Journal of Controlled Release*, vol. 104, pp. 51-66, 2005.

- [223] H. X. Nguyen et A. K. Banga, «Fabrication, characterization and application of sugar microneedles for transdermal drug delivery,» *Therapeutic Delivery*, vol. 8, 2017.
- [224] M. T. McCrudden, E. McAlister, A. J. Courtenay, P. González-Vázquez, T. R. R. Singh et R. F. Donnelly, «Microneedle applications in improving skin appearance,» *Experimental Dermatology*, vol. 24, pp. 561-566, 2015.
- [225] T.-M. Tuan-Mahmood, M. T. McCrudden, B. M. Torrisi, E. McAlister, Garland, M. J., T. R. R. Singh et R. F. Donnelly, «Microneedles for intradermal and transdermal drug delivery,» *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 50, pp. 623-637, 2013.
- [226] T. Waghule, G. Singhvi, S. K. Dubey, M. M. Pandey, G. Gupta, M. Singh et K. Dua, «Microneedles: A smart approach and increasing potential for transdermal drug delivery system,» *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 109, pp. 1249-1258, 2019.
- [227] X. Chen, T. W. Prow, M. L. Crichton, D. W. K. Jenkins, M. S. Roberts, I. H. Frazer, G. J. P. Fernando et M. A. F. Kendall, «Dry-coated microprojection array patches for targeted delivery of immunotherapeutics to the skin,» *Journal of Controlled Release*, vol. 139, pp. 212-220, 2009.
- [228] S.-H. Baek, J.-H. Shin et Y.-C. Kim, «Drug-coated microneedles for rapid and painless local anesthesia,» *Biomedical Microdevices*, vol. 19, 2017.
- [229] J. Kim, M. Han, Y. Kim, S. Shin et S. Nam, «Tip-loaded dissolving microneedles for transdermal delivery of donepezil hydrochloride for treatment of Alzheimer's disease,» *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 105, pp. 148-155, 2016.
- [230] H. Suh, J. Shin et Y.-C. Kim, «Microneedle patches for vaccine delivery,» *Clinical and Experimental Vaccine Research*, 2014.
- [231] R. Paul, A. C. Saville, J. C. Hansel, Y. Ye, C. Ball, A. Williams, X. Chang, G. Chen, J. B. Ristaino et Q. Wei, «Extraction of Plant DNA by Microneedle Patch for Rapid Detection of Plant Diseases,» *ACS Nano*, 2019.
- [232] H. S. Gill, D. D. Denson, B. A. Burris et M. R. Prausnitz, «Effect of microneedle design on pain in human subjects,» *The Clinical Journal of Pain*, vol. 24, pp. 585-594, 2008.
- [233] J.-H. Park, M. G. Allen et M. R. Prausnitz, «Polymer Microneedles for Controlled-Release Drug Delivery,» *Pharmaceutical Research*, vol. 23, 2006.
- [234] D. Naranjo-Hernández, J. Reina-Tosina, L. M. Roa, G. Barbarov-Rostán, N. Aresté-Fosalba, A. Lara-Ruiz, P. Cejudo-Ramos et F. Ortega-Ruiz, «Smart Bioimpedance Spectroscopy Device for Body Composition Estimation,» *Sensors*, vol. 20, 2020.

Chapitre 2

Développement d'une matrice grande surface de capteurs de pression

1. Introduction	87
2. Architecture du capteur	88
3. Développement des capteurs piézorésistifs sur substrat flexible	91
3.1. Procédé de fabrication.....	91
3.1. Méthodes de caractérisation électromécanique des capteurs.....	95
3.2. Analyse des performances des capteurs.....	98
4. Conception et fabrication d'une matrice grande surface de capteurs.....	112
4.1. Conception et validation de l'architecture	112
4.2. Calibration et caractérisation de la matrice de capteur	114
4.3. Système électronique pour la lecture et le traitement des données de pression...	115
5. Conclusion.....	118
Références.....	120

1. Introduction

Ce chapitre porte sur la réalisation de capteurs de pression unitaires et d'une nappe actimétrique, système permettant de mesurer la pression exercée par un corps humain allongé dans le contexte de la prévention d'escarre. Cette nappe permettrait d'apporter un complément au personnel hospitalier en alertant ce dernier si la pression dépasse un certain seuil pendant un certain temps. Une étude a été menée par Pascal Couturier dans les années 2000 montrant l'utilité des données actimétriques pour caractériser le comportement moteur des sujets âgés lors d'un alitement prolongé [1].

Plusieurs solutions de capteurs de pression sont disponibles dans le commerce. Il s'agit, principalement, de capteur unitaire. Ils peuvent, donc, fournir une seule mesure de pression basée sur la zone où la charge est appliquée. La conductivité de ces capteurs augmente avec la pression car la distance inter-particules diminue au sein de la matrice polymère.

Le tableau suivant regroupe les caractéristiques géométriques et les propriétés de détection d'un échantillon de capteurs de pression unitaires disponibles à la vente :

Tableau 1 : Caractéristiques géométriques et propriétés de détection de différents capteurs de pression

	Tekscan [2]		Interlink electronics [3]		Sensor Products Inc. [4]	
Type de capteur	FlexiForce™ A301	FlexiForce™ A401	FSR® 400	FSR® 402	Tactilus®	Tactilus®
						
Gamme de force	0 – 4,5 N	0 – 31 N	0,2 – 20 N		0 - 400 PSI	0 - 100 PSI
Précision	-	-	-		±10%	
Surface active	Ø 9,53 mm (épaisseur 0,2 mm)	Ø 25,4 mm (épaisseur 0,2 mm)	Ø 5 mm (épaisseur 0,3 mm)	Ø 10 mm (épaisseur 0,3mm)	Ø 3 mm (épaisseur 0,12 mm)	Ø 10 mm (épaisseur 0,2 mm)
Répétabilité	< ±2.5%		±2% (unitaire) ±6% (lot)		±2%	
Non-linéarité	< ±3% FS (Full Scale)		-	-	±1,5%	
Hystérésis	< 4.5% FS		10%		±5%	

Les capteurs Tekscan[®] (Tekscan Inc., South Boston, MA, USA) sont constitués de deux couches de substrats en polyester ; de l'encre conductrice en argent est appliquée sur chacune des deux couches, suivi d'une couche d'encre sensible à la pression. Les capteurs Interlink FSR[®] (Interlink Electronics Inc., Camarillo, CA, USA) sont des dispositifs à couche mince constitués de deux motifs conducteurs interdigités imprimés sur un substrat en polyester (Mylar) qui fait face à un autre substrat avec une encre piezorésistive imprimée. Ces substrats sont séparés par une entretoise créant un circuit ouvert lorsqu'aucune pression n'est appliquée et un chemin de conduction lorsque ces capteurs sont chargés. Ces capteurs répondent à un changement de force par une variation de résistance approximativement linéaire. Enfin, les capteurs Tactilus[®] (Sensor Products Inc., Madison, NJ, USA) incorpore de l'encre résistive déposée par sérigraphie pour séparer les parties conductrices.

Dans un premier temps, un prototype de capteur de pression piezorésistif a été développé. Il est constitué d'électrodes interdigitées en argent imprimées sur substrat flexible plastique et d'une membrane piezorésistive. Cette dernière est obtenue grâce à une entretoise et à un polymère composite déposé sur le même type de substrat que les électrodes. Ces trois éléments sont ensuite alignés et laminés pour former le capteur. La réponse électrique de ce dernier lorsqu'il est soumis à une contrainte mécanique a été caractérisée. L'hystérésis du polymère composite a été mis en exergue. Le capteur a également été soumis à plusieurs cycles de compression répétés afin d'évaluer sa stabilité mécanique.

Dans un second temps, avec la meilleure conception de capteur unitaire, un premier prototype de matrice de capteurs grande surface a été fabriqué. Cette matrice est connectée à une électronique embarquée spécifique dont le rôle est de scanner l'ensemble de la surface active de la matrice et d'envoyer ces données à un ordinateur. Une interface graphique dédiée permet l'affichage de ces dernières.

2. Architecture du capteur

Pendant ces dernières années, plusieurs types de matériaux ont été testés afin de développer des capteurs piézorésistifs performants. Ces études portent principalement sur les composites : une matrice polymère dans laquelle une charge est dispersée.

Un seuil de percolation particulièrement étudié et connu est celui de la conductivité électrique en fonction de la concentration de charges conductrices dans une matrice isolante. Un exemple de ce type de phénomène est le noir de carbone qui permet de charger les matériaux polymères thermoplastiques (Figure 1).

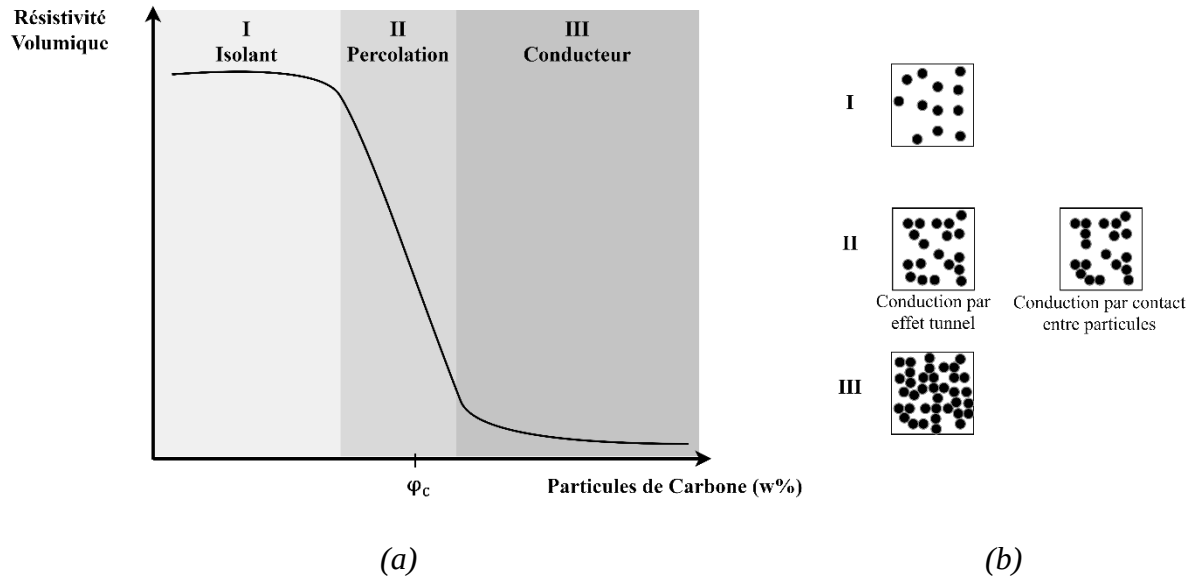


Figure 1 : (a) Courbe de percolation montrant la variation de la conductivité électrique du composite en fonction de la proportion en particules de carbone. (b) Morphologie des particules dans les différentes régions de la courbe de percolation. Région I : Peu de particules conductrices, le polymère est isolant. Région II : En augmentant la concentration en particules de carbone, la résistivité diminue. Deux types de conduction apparaissent : conduction par effet tunnel et par contact entre les particules. Région III : La proportion en charges est suffisante pour obtenir une conduction ohmique.

Pour des concentrations faibles (Région I), les particules conductrices sont séparées les unes des autres dans la matrice polymère. La conduction est très faible. Pour une certaine gamme de concentration ($\varphi \approx \varphi_c$) (Région II), la résistivité diminue fortement pour s'approcher d'un autre plateau avec une résistivité encore plus faible.

La Figure 1 montre que la chute brutale de la résistivité du composite (percolation) peut s'expliquer par la formation de chemin partant de la partie inférieure à celle supérieure du dispositif et permettant au courant de circuler.

A des concentrations plus élevées ($\varphi > \varphi_c$), des chemins de conduction supplémentaires apparaissent provoquant une nouvelle baisse de la résistivité électrique mais l'effet global est moins important que dans la Région II.

Les matériaux les plus communément utilisés comme charge sont des particules métalliques, des nanofils de métal [5] ou encore des matériaux à base de carbone dont des particules de carbone [6], des nanotubes de carbone (CNTs) [7] ou de l'oxyde de graphène réduit (rGO) [8].

Les différentes caractéristiques des particules métalliques et à base de carbone sont résumées dans le Tableau 2 [9].

Tableau 2 : Matériaux utilisés comme charge dans les composites polymères conducteurs

Matériaux	Classification	Avantages	Inconvénients
Métal		- Excellente conductivité électrique - Bonne stabilité chimique	- S'oxyde facilement - Instable en conductivité - Dureté élevée - Difficile à modeler
Carbone	Graphène	- Excellente conductivité - Bas coût	- Instable en conductivité - Difficulté à former des agrégats en chaîne
	Carbone	- Conductivité stable et importante - Facile à préparer - Bas coût - Grande diversité	- Difficile à disperser
	Nanotubes de carbone	- Excellent conducteur - Grande surface	- Complexe à préparer - Coûteux

Le capteur de pression piezorésistif développé dans ces travaux est composé de deux membranes séparées par un fin gap d'air maintenu par une entretoise. Celle-ci est composée d'une feuille de PET entourée par deux couches de colle acrylique (Figure 2). Sur la membrane inférieure se trouvent des électrodes interdigitées en argent et sur la membrane supérieure une encre piezorésistive à base de carbone.

Quand une pression est exercée sur sa zone sensible, la résistance à ses bornes diminue drastiquement, l'encre piezorésistive connectant entre elles les lignes d'argent (Figure 2).

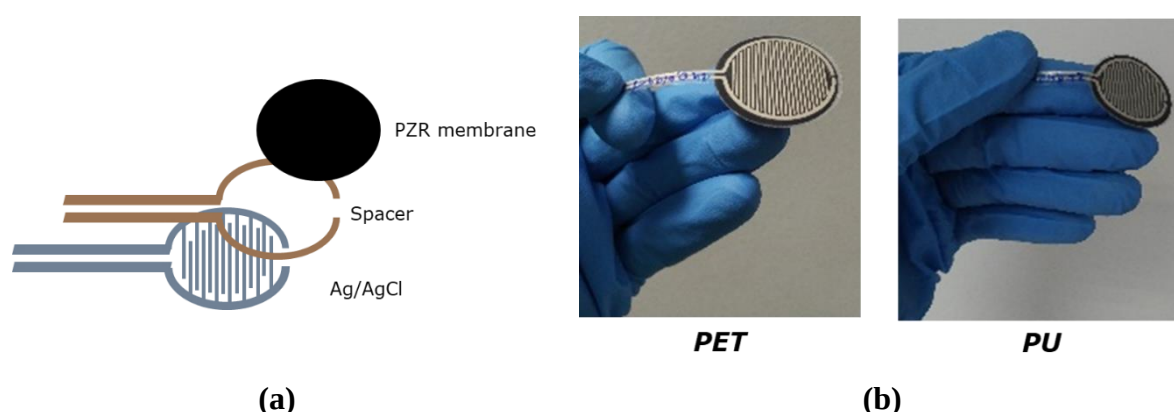


Figure 2 : (a) Vue éclatée de l'architecture du capteur de pression. (b) Deux matériaux plastiques ont été testés : PET et PU.

La membrane piezorésistive est, généralement, composée d'un polymère conducteur [10], d'un polymère semiconducteur [11], ou comme nous l'avons évoqué, dans les paragraphes ci-dessus,

d'un composite à base de PDMS, d'élastomère ou de caoutchouc chargé de nanoparticules conductrices.

Les deux modes de conduction principaux dans les polymères composites (membrane piezorésistive) sont la percolation et l'effet tunnel, parfois une combinaison des deux [12]. Quand ce type de matériau est soumis à un stress mécanique, l'inter-distance moyenne entre les charges change, et, par conséquent, la résistance électrique du polymère varie.

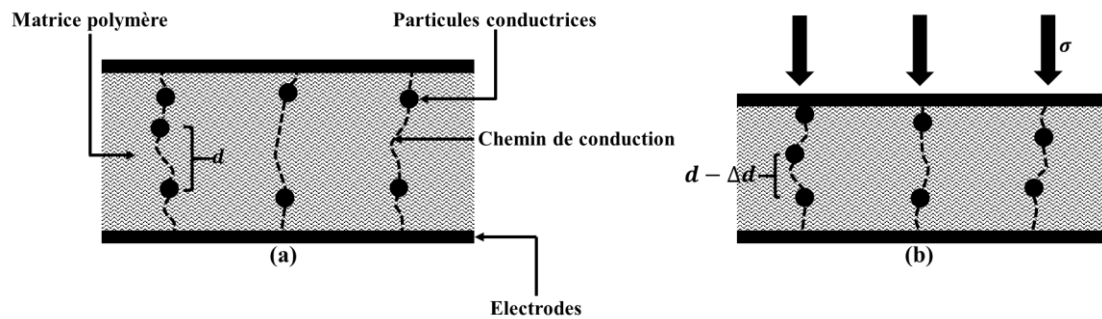


Figure 3 : Schéma d'un polymère avec des charges aléatoirement disposées. Les lignes en pointillé correspondent à des chemins de conduction. (a) Polymère composite avec comme mécanisme de conduction, l'effet tunnel. (b) Dans cette situation, le polymère composite est soumis à un stress mécanique (σ) entraînant une diminution dans la longueur des chemins de conduction de d à $d - \Delta d$.

Les capteurs de pression avec l'architecture de la Figure 2 repose sur l'effet tunnel avec plusieurs chemins possibles comme l'indique la figure précédente (Figure 3). Les particules transmises sont les électrons, la matrice polymère jouant le rôle de barrière de potentiel. Le rôle des charges dans la matrice polymère est de permettre aux électrons de franchir ces barrières de potentiel et donc de circuler entre les électrodes.

Lorsqu'une contrainte mécanique σ est appliquée sur ce type de capteur, la plupart des chemins de conduction par effet tunnel se réduisent entraînant un flux d'électrons plus important. Ce phénomène se produit quand la concentration en particules est en dessous du seuil de percolation φ_C .

3. Développement des capteurs piézorésistifs sur substrat flexible

3.1. Procédé de fabrication

Les capteurs piezorésistifs sont composés de trois parties : les électrodes interdigitées, l'entretoise et la membrane piezorésistive. Le procédé de fabrication est détaillé à la Figure 4. Un substrat en polyuréthane (PU 80 μm , taille A3, EU94DS DelStar Technologies) ou en polyéthylène téréphtalate (PET 75 μm , taille A3, Lumirror® 60.28 de Toray) ont été utilisés. Le PET est particulièrement utilisé dans la réalisation de capteur flexible. En outre, le PU est un substrat qui peut être soumis à une elongation. En effet, ces capteurs doivent être capables de

se conformer aux différentes courbures du corps du patient. Il faut également que la solution développée intègre un capteur confortable.

- Impression d'une encre métallique par sérigraphie pour former des électrodes interdigitées sur un premier substrat.
- Impression d'une encre piezorésistive par sérigraphie sur un second substrat
- Découpe d'une entretoise
- Alignement et laminage des deux substrats séparés par ladite entretoise afin de former une membrane piezorésistive ultra-souple.

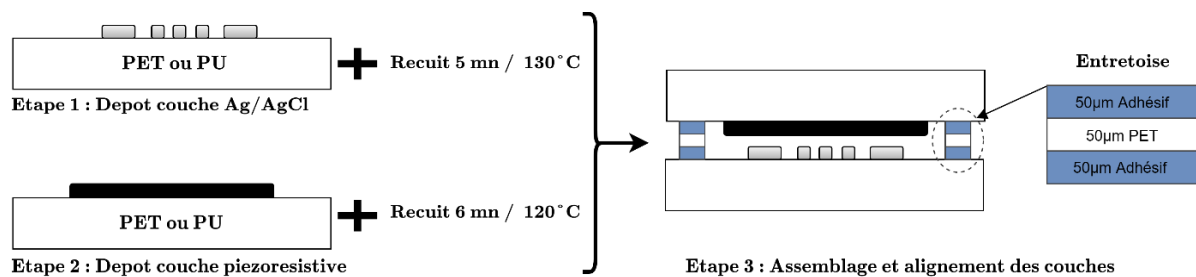


Figure 4 : Etapes du procédé de fabrication des capteurs flexibles piezorésistifs

Les dépôts sérigraphiques ont été réalisés à l'aide de la machine d'impression EKRA E2. Il s'agit d'une machine semi-automatique qui a été spécialement conçue pour une grande variété de substrats flexibles et rigides (Figure 5).

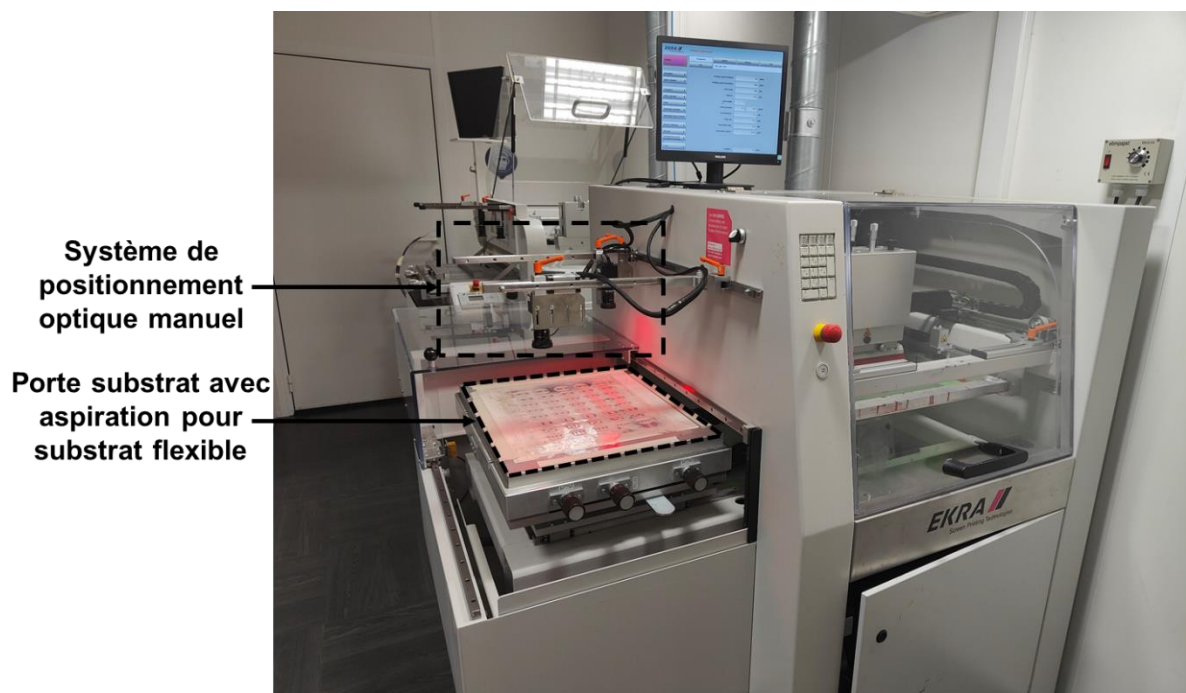


Figure 5 : Machine d'impression sérigraphie semi-automatique EKRA E2

Un système de racle et contre-racle associé à un écran permet de déposer les différents types d'encre sur des substrats flexibles selon le design désiré (Figure 6).

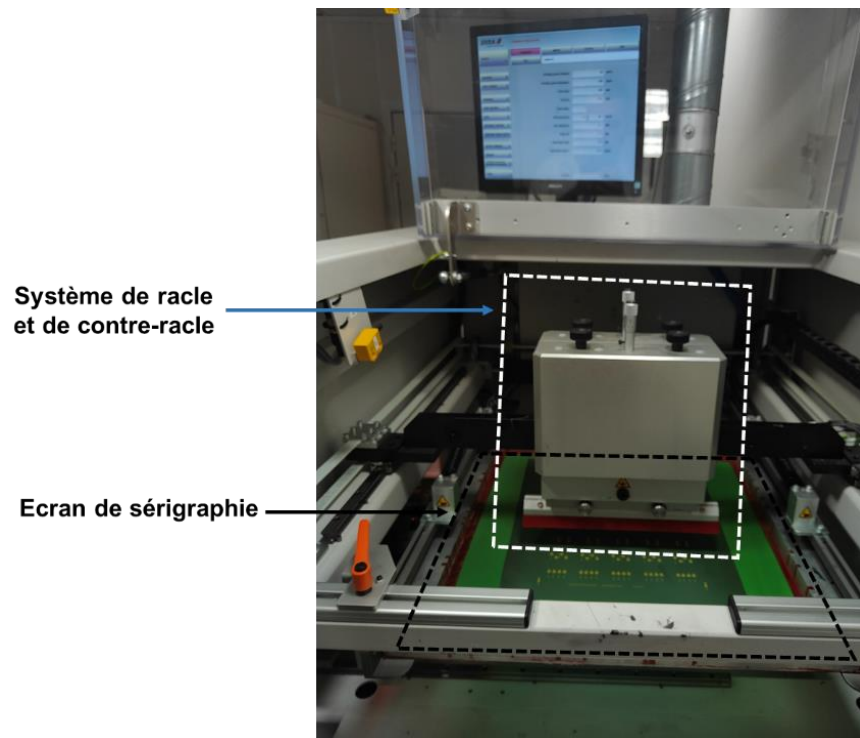


Figure 6 : Système de racle et contre-racle associé à un écran de sérigraphie

Les encres une fois déposées sur les substrats sont recuites dans un four spécifique. Ce dernier est constitué de trois zones de chauffe distinctes avec un convoyeur. Cette solution dispose également d'une lampe à ultraviolet (Figure 7).



Figure 7 : Four à tunnel de la ligne de sérigraphie

Dans un premier temps, des électrodes métalliques sont fabriquées par sérigraphie d'une encre métallique de grade médical (CI4001 (Ag:AgCl 45:55), Engineered Materials Systems). Un recuit à 130°C pendant 5 minutes permet d'obtenir des films métalliques de 20 µm d'épaisseur. La résistivité électrique de cette encre Ag/AgCl est de l'ordre de 1270 µΩ.cm.

L'encre piezorésistive est, ensuite, imprimée par sérigraphie sur un autre substrat flexible en PU ou PET. Le choix s'est porté sur une encre polymère obtenu en mélangeant une encre à base de microparticules de carbone (7004HR, Henkel) avec une encre polymère thermodurcissable (7002, Henkel). Ainsi, la résistivité électrique du composite piezorésistif dépend du ratio de l'encre carbone dans sa matrice polymère et de la température de recuit (Figure 8).

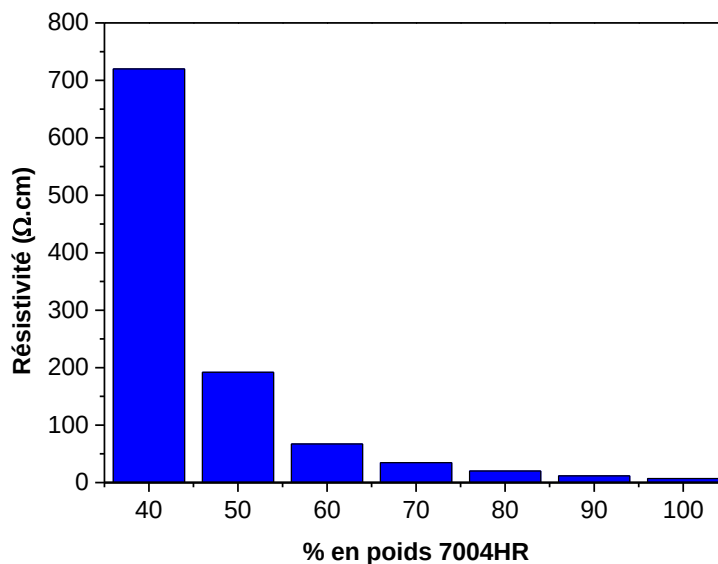


Figure 8 : Résistivité de l'encre polymère piezorésistive Henkel en fonction de la quantité de carbone rajoutée

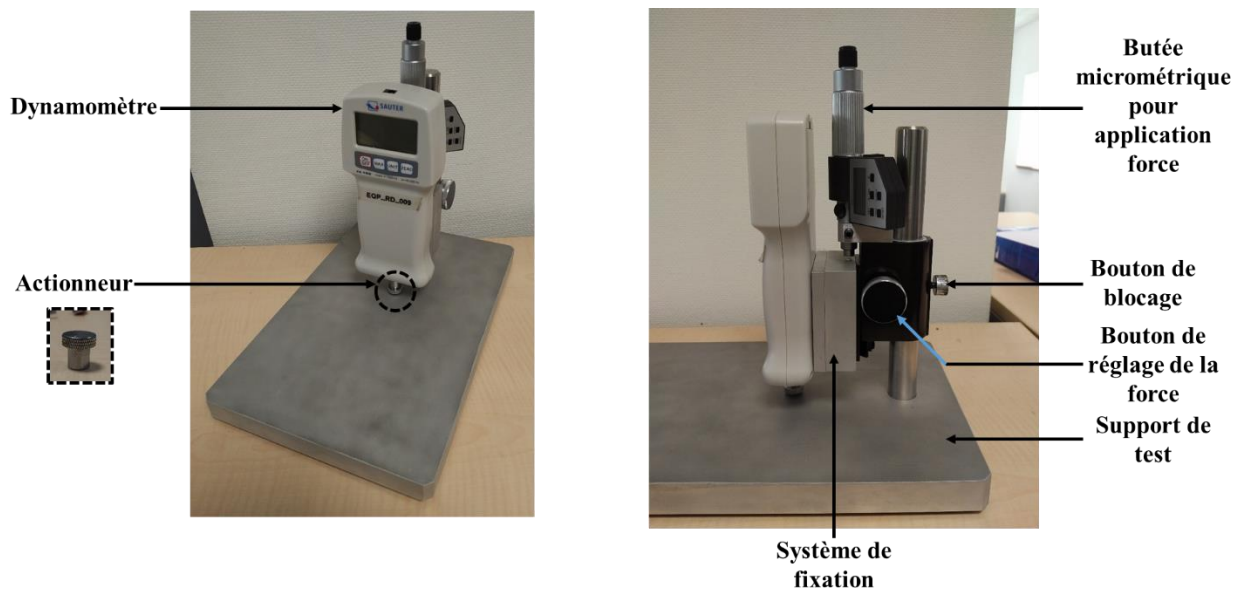
Afin de garantir une sensibilité importante sur la gamme de pression considérée, le mélange retenu a un ratio 7004HR / 7002 de 60/40 avec une résistivité de 67,2 Ω.cm. Une seule couche est déposée sur le substrat plastique. L'étape de séchage de ce mélange est réalisée à 120 °C pendant 6 minutes.

Ensuite, une entretoise sous forme d'un film organique sensible à la pression (MACtouch T 6020 T) est découpée, alignée et laminée manuellement sur le substrat contenant les électrodes interdigitées métalliques, son épaisseur est de l'ordre de 150 µm (Figure 4).

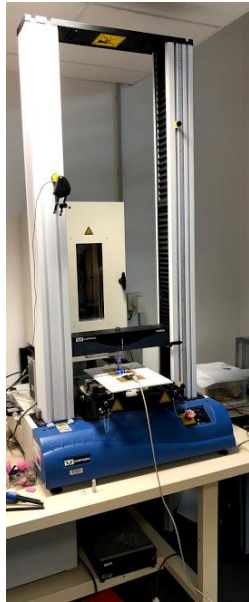
Finalement, le substrat sur lequel sont déposées les électrodes interdigitées est aligné et laminé manuellement avec celui contenant l'élément piezorésistif en utilisant l'entretoise comme élément de collage.

3.1. Méthodes de caractérisation électromécanique des capteurs

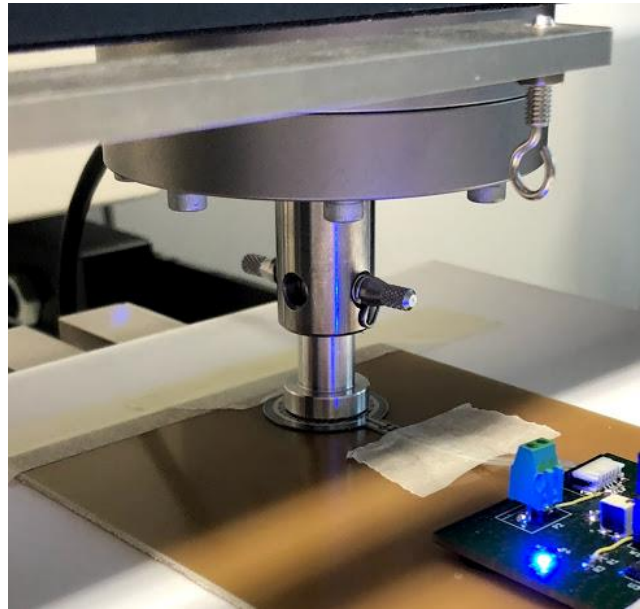
Dans un premier temps, les capteurs fabriqués ont été caractérisés mécaniquement à l'aide d'un dynamomètre (FK100 de Sauter). Ce dernier permet d'appliquer une force verticale jusqu'à 100 N avec une résolution de 50 mN et une précision de $\pm 0,5 \%$. Le banc de caractérisation est composé d'une potence et d'un système de fixation pour maintenir le dynamomètre au-dessus de l'échantillon pendant l'application de la force (Figure 9). Le bouton de réglage de force est une vis millimétrique. Ce réglage n'étant pas suffisamment précis, une butée micrométrique a été ajoutée afin de pouvoir régler plus finement la force et la maintenir sur le capteur caractérisé. La pression est exercée sur 80 % de la surface active du capteur de pression grâce à l'actionneur.



Ensuite, les tests de cyclage et de durabilité des capteurs ont été réalisés afin d'évaluer leurs performances grâce à des caractérisations électromécaniques effectuées à l'aide d'une machine de traction instrumentée (INSTRON MTS) (Figure 10).



(a)



(b)

Figure 10 : (a) Machine de traction INSTRON utilisée pour réaliser des caractérisations mécaniques supplémentaires. (b) La pression est exercée sur le capteur de pression via le même type d'actionneur que celui du banc développé chez Feeligreen

Les différentes données expérimentales ont été récupérées grâce à un programme LabView.

Une carte électronique associée à une interface graphique a été développée afin de pouvoir récupérer in-situ les variations de résistance aux bornes du capteur (Cf. Annexe A). Le microcontrôleur 8 bits utilisé est le PIC16F1847 de Microchip. Le circuit de conditionnement du capteur piezorésistif repose sur un amplificateur de haute précision (OPA188) dans un montage non inverseur (Figure 11). Cet amplificateur possède plusieurs caractéristiques intéressantes : faible oscillation de la tension de sortie (15 mV) relativement à la tension d'alimentation, haute impédance d'entrée, un taux de réjection du mode commun de 146 dB. Le potentiomètre permet de faire varier le gain de l'amplificateur opérationnel et de s'adapter au capteur caractérisé en conservant une dynamique de tension de sortie acceptable.

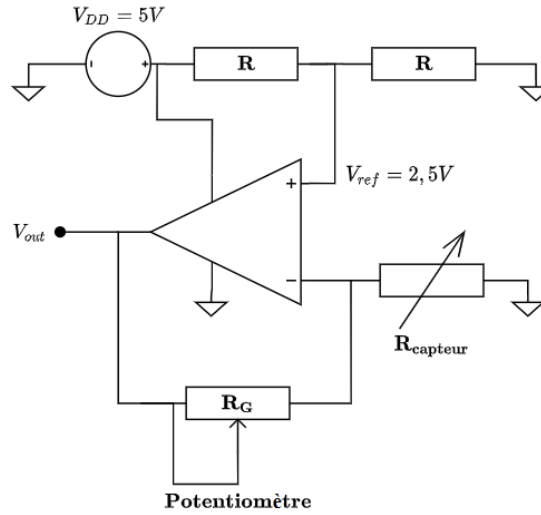


Figure 11 : Montage non inverseur utilisé pour mesurer les variations de résistance du capteur de pression

Ainsi, la tension de sortie de l'amplificateur opérationnel est donnée par l'équation 2.1:

$$V_{out} = \left(\frac{R_G}{R_{capteur}} + 1 \right) V_{Ref}, \quad V_{Ref} \leq V_{out} \leq V_{DD} \quad (2.1)$$

Le potentiomètre permet de faire varier le gain de l'amplificateur opérationnel et de s'adapter au capteur caractérisé en conservant une dynamique de tension de sortie acceptable.

Cette tension V_{out} est obtenue en effectuant une moyenne sur 10 mesures du convertisseur analogique numérique du PIC16F1847.

La communication entre la carte électronique et l'ordinateur se fait via l'UART (Universal Asynchronous Receiver/Transmitter). Il s'agit d'une liaison série. Un FT232R de FTDI est utilisé. Il s'agit d'un circuit intégré faisant office d'interface USB vers la liaison série UART.

Enfin, une interface graphique a été développée en WLangage pour pouvoir récupérer les données de caractérisation (Figure 12).

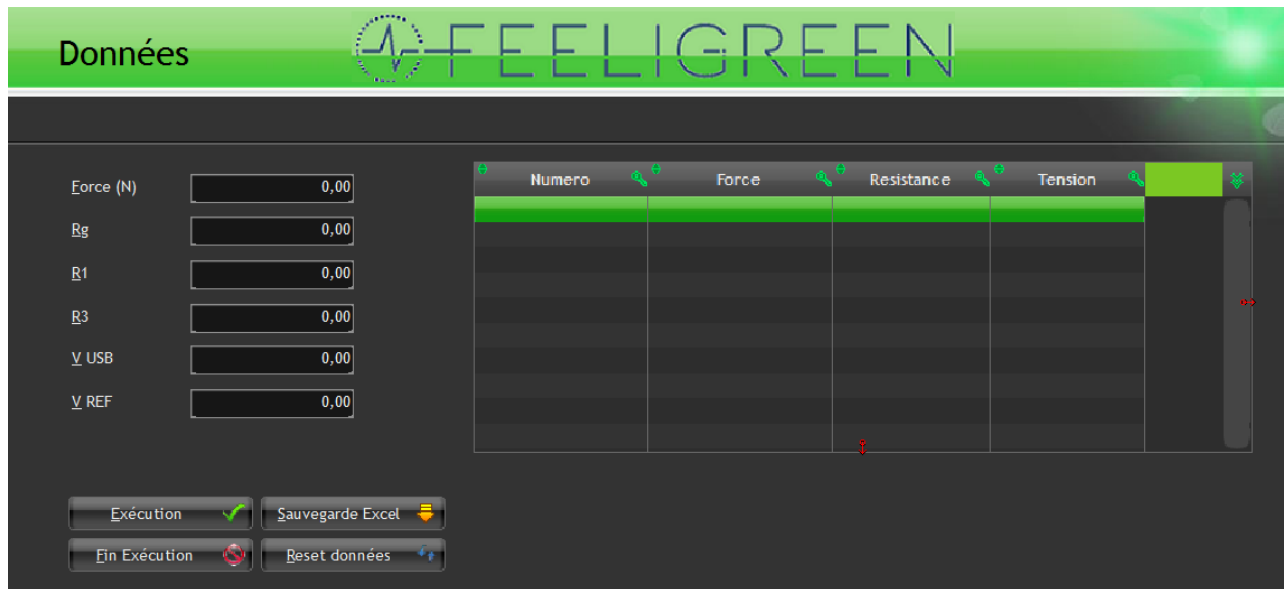


Figure 12 : Interface graphique WinDev permettant de récupérer les données des caractérisations et de les sauvegarder dans un fichier .xls

Le caractère 'Y' est transmis par l'ordinateur au microcontrôleur qui répond en envoyant la trame 'C' / Moyenne sur 16 bits / 'K'. Le programme WinDev a pour fonction de convertir cette trame en tension puis calcule la résistance équivalente avec la relation (2.1).

3.2. Analyse des performances des capteurs

Afin de pouvoir déterminer la configuration optimale des capteurs, présentant les meilleures performances électromécaniques, l'impact de plusieurs paramètres géométriques a été évalué : la surface des capteurs en lien avec le nombre d'électrodes (la variation de la distance inter-électrodes sans en augmenter le nombre tout en garantissant une structure circulaire implique un changement de surface), l'espacement inter-électrodes, et le type de substrat.

La Figure 13 regroupe les designs des capteurs unitaires en fonction des paramètres géométriques évalués.

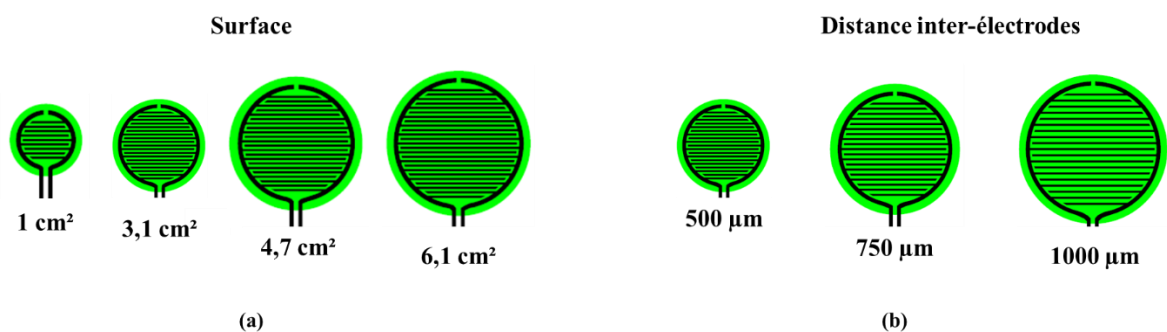


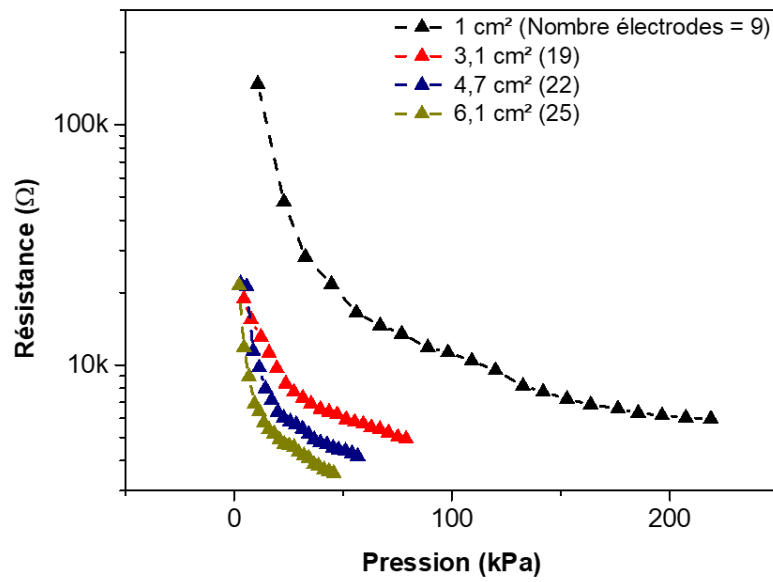
Figure 13 : Designs des capteurs unitaires en fonction des paramètres géométriques considérés : (a) Variation de la surface (b) Variation de la distance inter-électrodes

Le Tableau 3 récapitule l'ensemble des caractéristiques géométriques des capteurs de la Figure 13.

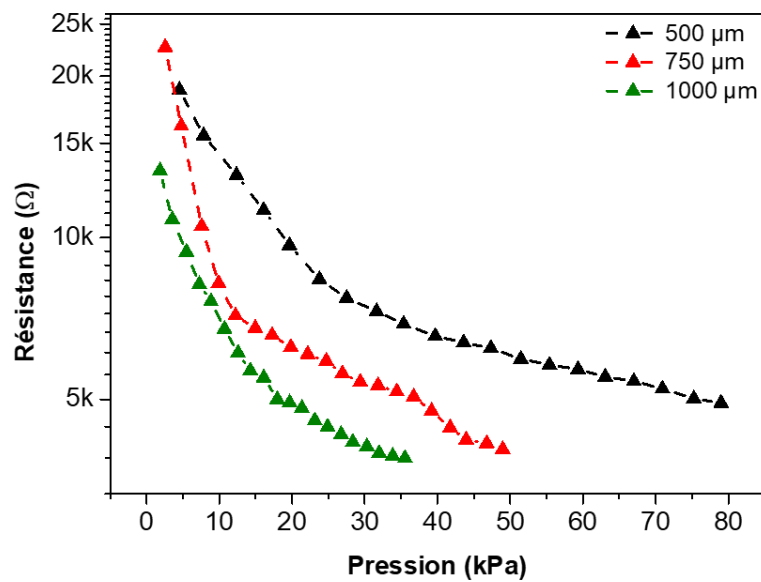
Tableau 3 : Caractéristiques géométriques des capteurs

Aire (cm²)	Largeur électrodes (μm)	Distance inter- électrodes (μm)	Nombre électrodes
1	500	500	9
3,1	500	500	19
4,7	500	500	22
6,1	500	500	25
Distance inter- électrodes (μm)	Largeur électrodes (μm)	Aire (cm²)	Nombre électrodes
500	500	3,1	19
750	500	5	19
1000	500	6,7	19

La Figure 14 montre la variation de la résistance électrique en fonction de la pression appliquée.



(a)



(b)

Figure 14 : Variation de la résistance électrique des capteurs imprimés sur PET en fonction de la pression appliquée : (a) Surface (b) Distance Inter-électrodes

Ainsi, comme attendu, la résistance aux bornes des capteurs diminue lorsque la pression exercée sur ces derniers augmente. Ces tendances de variation de résistance électrique en fonction de la pression appliquée sont assez similaires lorsque le nombre d'électrodes / surface augmente.

En outre, il a été démontré que la résistance totale, pour de faibles forces, des polymères composites chargés de particules conductrices peut être décrite par l'équation (2.2) [13]:

$$R = \frac{(L - 1)R_m + LR_c}{S} \approx \frac{L(R_m + R_c)}{S} \quad (2.2)$$

Où R désigne la résistance du composite, R_m la résistance entre deux particules adjacentes, R_c la résistance à travers une particule, L le nombre de particules formant un chemin de conduction, et S le nombre de chemins de conduction.

Pour le régime des faibles forces, inférieures à 10 kPa, l'augmentation de l'aire de contact entre les électrodes métalliques et le polymère va favoriser la réduction de la résistance aux bornes du capteur.

Cependant, les valeurs de la résistance électrique sont plus faibles lorsque le nombre d'électrodes augmente.

En effet, la résistance totale est la somme de la résistance de contact R_c et du polymère R_{pol} [14]:

$$R = R_c + R_{pol} \quad (2.3)$$

La résistance de contact est définie par la formule de Holm et Greenwood comme suit :

$$R_c = \frac{\rho_1 + \rho_2}{4na} = \frac{\rho_1 + \rho_2}{4} \sqrt{\frac{\pi H}{F}} \quad (2.4)$$

Avec ρ_1, ρ_2, n, a respectivement la résistivité électrique de l'argent imprimée, la résistivité électrique de la couche piézoresistive, le nombre de point de contact (dit aspérités) entre l'argent et le matériau piézoresistif et le rayon des aspérités. Les grandeurs H et F désignent la dureté de Meyer du matériau piézoresistif et la force appliquée.

La Figure 15 récapitule les réponses des capteurs en fonction de la variation de leur surface et de la distance inter-électrodes :

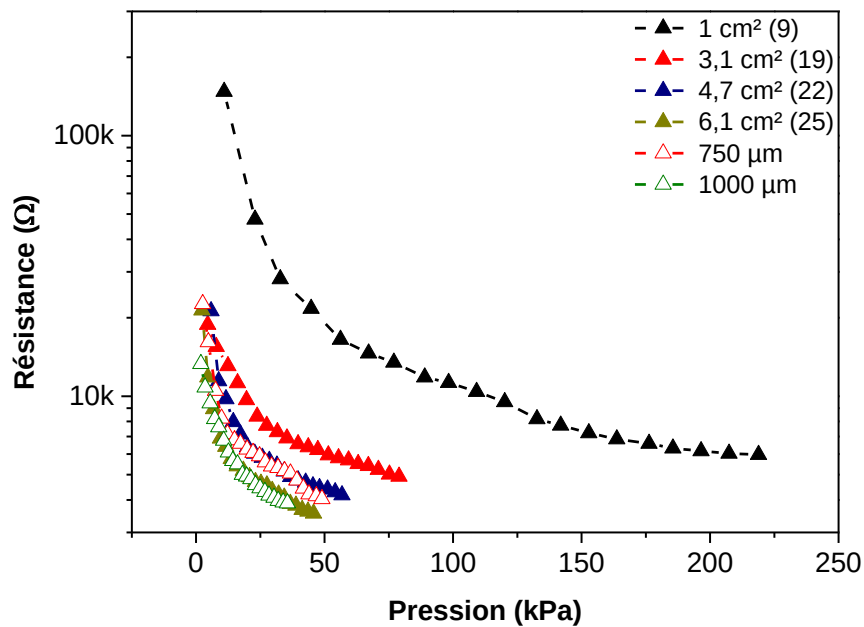
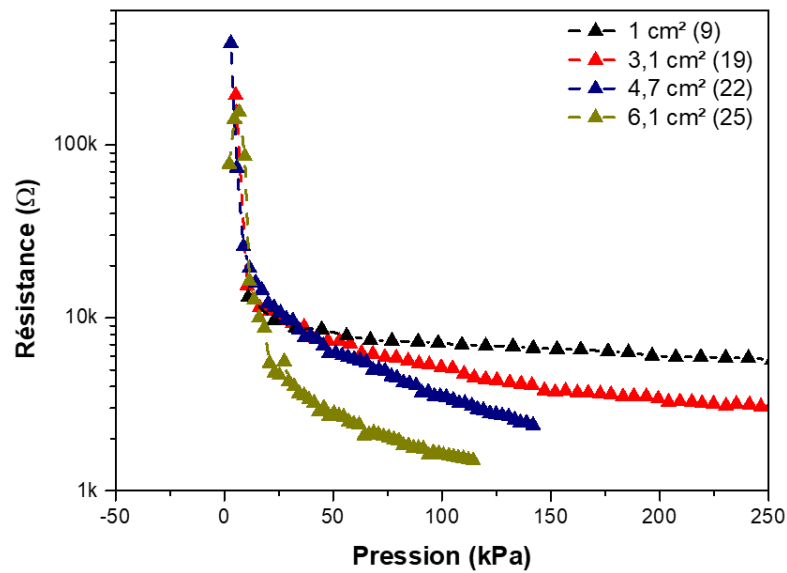


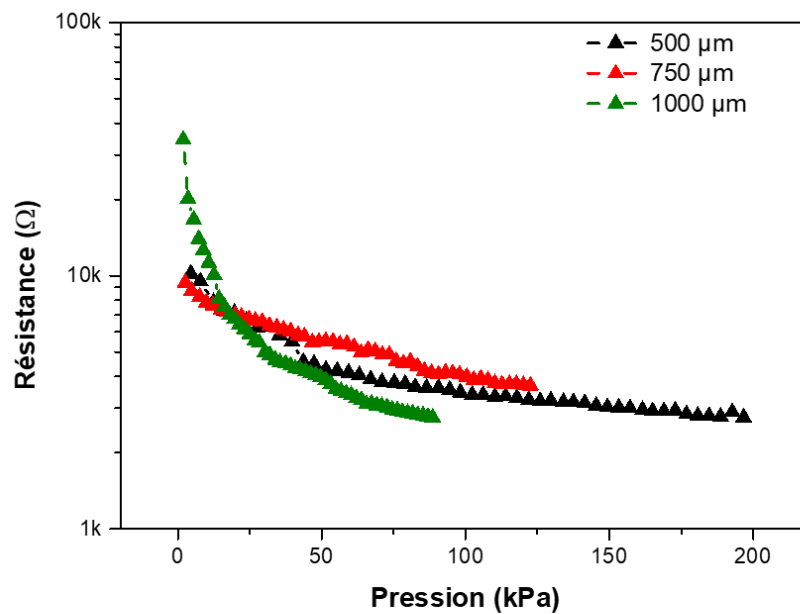
Figure 15 : Graphe regroupant les différentes réponses des capteurs imprimés sur PET pour différents paramètres géométriques

Les faibles valeurs de résistance pour les capteurs de plus grande surface peuvent être expliquées par le fait que la surface de contact est plus importante à pression identique, comparée à celles des capteurs ayant de plus petites surfaces.

Une étude comparable a été menée sur un substrat en polyuréthane (PU).



(a)



(b)

Figure 16 : Variation de la résistance électrique des capteurs imprimés sur PU en fonction de la pression appliquée : (a) Surface (b) Distance Inter-électrodes

Les conclusions précédentes sur l'influence de la variation des paramètres géométriques sur la réponse des capteurs imprimés sur PET se retrouvent, également, mais de manière moins marquée pour les capteurs imprimés sur PU. Ceci peut être expliqué par le fait que la membrane piezorésistive sur PU est beaucoup plus flexible que celle sur PET, permettant ainsi d'obtenir

des surfaces de contact plus importantes dans le cas du PU que dans le cas du PET à pression identique.

Deux régimes sont présents comme susmentionnés pour les capteurs imprimés sur substrat PET. Pour les faibles forces, il s'agit principalement de la minimisation de la résistance de contact entre les électrodes métalliques et les particules conductrices présentes dans le polymère. Le deuxième régime implique une diminution des chemins de conduction par application d'une contrainte mécanique entre les particules conductrices au sein de la matrice polymère [15].

Cependant, pour le PU, une perte en sensibilité est observée notamment pour les surfaces de capteur de 1 cm² et 3,1 cm². Ceci pourrait s'expliquer par les caractéristiques mécaniques du substrat avec un module d'Young plus petit du PU que du PET.

L'étude de l'influence des paramètres géométriques sur la réponse des capteurs sensibles à la pression sur substrat PU est regroupée dans la Figure 17:

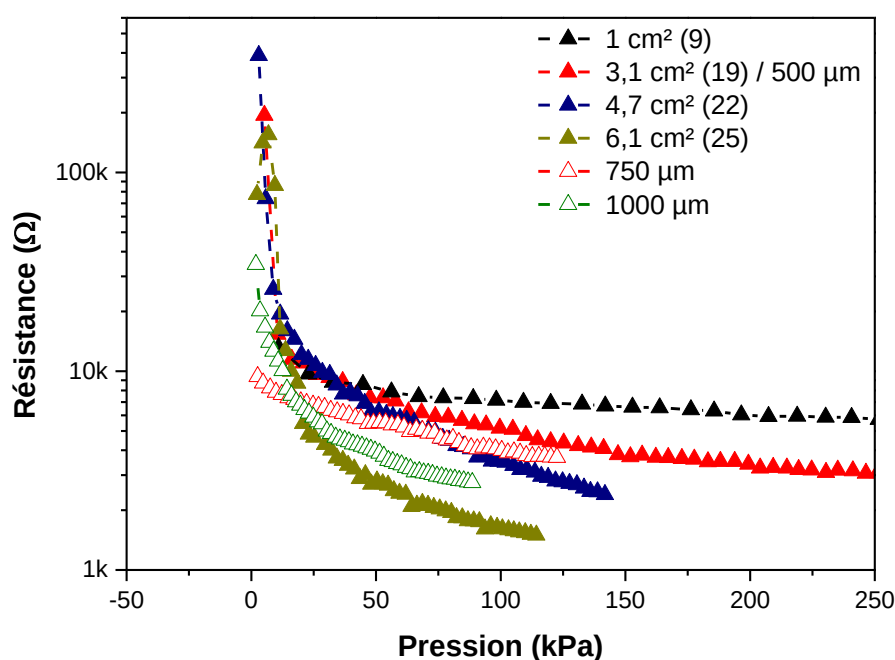


Figure 17 : Récapitulatif des différentes réponses des capteurs imprimés sur PU en fonction des variations de leurs paramètres géométriques

En outre, nous avons également comparé la réponse des capteurs imprimés sur PU et PET.

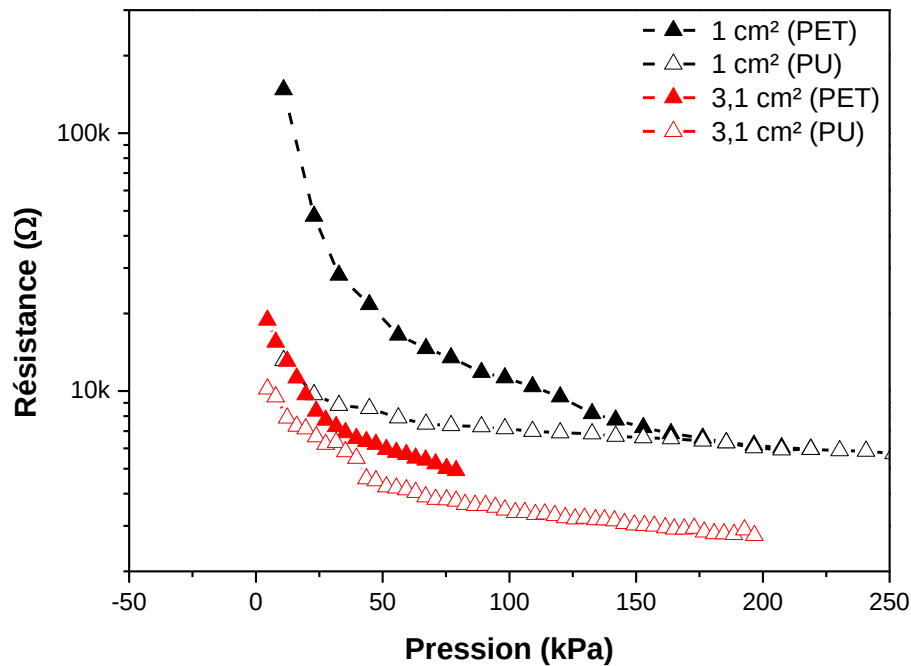


Figure 18 : Comparaison des réponses des capteurs de 1 cm² et 3 cm² imprimés sur PET et PU

Sur la Figure 18, les capteurs imprimés sur substrat PU d'une surface de 1 cm² sont moins sensibles aux faibles forces pour une la même surface mais imprimés sur PET. Cette différence est moins marquée sur les capteurs d'une surface de 3,1 cm².

Le meilleur espacement entre chaque électrode est de 500 μm (Figure 15). En effet, entre 0 kPa et 25 kPa, la résistance permet de déterminer efficacement la pression exercée sur le capteur avec un espacement de 500 μm. Au-delà de 25 kPa, la distinction entre les différentes pressions se dégradent ; la pente Résistance vs Pression est plus faible pour les différents espacements. Cependant, il n'y a pas de saturation avec la distance entre chaque électrode de 500 μm sur la gamme de 25 kPa à 80 kPa.

Ainsi, au regard de ces résultats, le capteur doit posséder les caractéristiques géométriques suivantes :

- Une surface active comprise entre 1 cm² et 3 cm²
- Une distance entre chaque électrode de 500 μm

Les propriétés géométriques du capteur choisi sont regroupées dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Caractéristiques géométriques du capteur sélectionné

	Surface de la zone active	Distance entre les électrodes	Largeur des électrodes	Nombre d'électrodes
Capteur sélectionné	3 cm ²	500 µm	500 µm	19

Une fois la surface de 3 cm² sélectionnée, des tests de performance ont été réalisés afin de déterminer la non-linéarité, la non-répétabilité, et l'hystérésis.

Non-linéarité

Le calcul a été effectué sur deux cycles de charge entre 0 N et 20 N. La méthode utilisée est celle du « *Best Fit Straight Line* ». La réponse Conductance Expérimentale vs Pression est ajustée linéairement. Les coefficients sont déterminés à l'aide du logiciel OriginPro. Les conductances théoriques sont calculées à l'aide de ces coefficients.

Finalement, la non-linéarité pour chaque capteur est calculée comme suit :

$$Non - linéarité (\%) = Max \left(\frac{abs(Conductance_{Exp} - Conductance_{Théo})}{Gamme\ de\ pression} \right) \cdot 100 \quad (2.5)$$

Une moyenne est enfin effectuée sur toutes les valeurs de non-linéarité pour les différents capteurs.

Non-répétabilité

Le calcul est effectué sur trois cycles de charge entre 0 N et 20 N. La réponse Conductance Expérimentale vs Pression est ajustée linéairement et les coefficients sont déterminés avec le logiciel Origin Pro. Ces derniers permettent de calculer les conductances théoriques pour chaque pas de pression sur le premier cycle. Ensuite, ces valeurs théoriques du premier cycle sont comparées avec les données expérimentales exprimées en conductance des deux autres cycles de charge.

Finalement, la non-répétabilité du cycles x par rapport au premier cycle peut s'exprimer suivant la relation suivante :

$$Non - répétabilité_{1/x} (\%) = Max \left(\frac{abs(Conductance_{Exp/x} - Conductance_{Théo/1})}{Gamme\ de\ pression} \right) \cdot 100 \quad (2.6)$$

Hystérésis

Le comportement hystérétique du polymère composite chargé en particule de carbone a été caractérisé au travers plusieurs cycles de charge et décharge pour le capteur avec une entretoise de 150 µm sur substrat en PET.

Ces cycles de charge et de décharge sont composés (Figure 19) :

- Cycle de compression de 0 N à 20 N (1 N/min) : 10 minutes
- Maintien pendant 5 minutes de la force de 20 N
- Cycle de décharge de 20 N à 0 N (1 N/min) : 10 minutes
- Force de 0 N pendant 1 minute

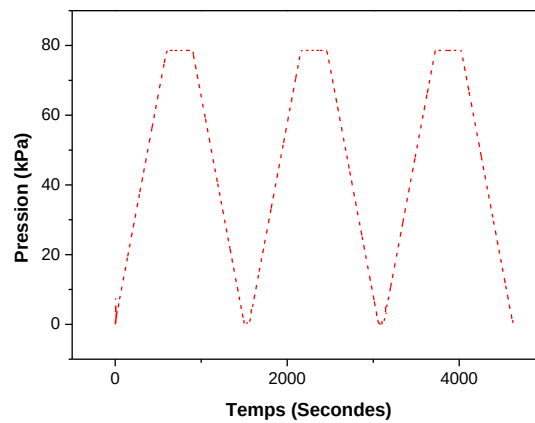


Figure 19 : Cycles de charge et de décharge pour caractériser le comportement hystérétique du polymère composite

L'hystérésis est calculée sur la conductance de la manière suivante :

$$\begin{aligned} & \text{Hystérésis (\%)} \\ &= \frac{\text{abs}(\text{Conductance}_{\text{cycle charge}} - \text{Conductance}_{\text{cycle décharge}})}{\text{Gamme de pression}} \end{aligned} \quad (2.7)$$

Récapitulatif

Les caractéristiques du capteur de 3,1 cm² imprimé sur PU et PET sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Récapitulatif des performances du capteur de 3,1 cm² sur substrat PET et PU

Capteur 3,1 cm² PET (10 kPa – 80 kPa)		
Non-linéarité (%)	Non-répétabilité (%)	Hystérésis (%)
4,98 (±1,1)	7,46 (±1,3)	10,58 (Cycle 1)
		7,37 (Cycle 2)
		5,16 (Cycle 3)
Capteur 3,1 cm² PU (10 kPa – 80 kPa)		
Non-linéarité (%)	Non-répétabilité (%)	Hystérésis (%)
6,7 (±0,55)	18,3 (±7,68)	17,3 (Cycle 1)
		15,1 (Cycle 2)
		12,3 (Cycle 3)

Les performances des capteurs développés, dans le cadre de la thèse sont sensiblement identiques à ceux disponibles dans le commerce (Tableau 1). En outre, l'hystérésis décroît pour le substrat en PET pouvant indiquer un écrasement de l'adhésif de l'entretoise. Il est intéressant, également, de noter que les performances sont moins bonnes sur le substrat PU. Cela pourrait être provoqué par le module d'Young plus faible de ce dernier comparé à celui en PET.

Le comportement du capteur flexible avec deux types d'entretoise a été investigué. La première entretoise est celle utilisée dans les tests précédents : la MACtouch T 6020 T. La seconde est le DuploCOLL® 364.2 de Lohmann. Son épaisseur est de 225 μm (Film de PET de 125 μm).

Les deux capteurs caractérisés sont imprimés sur substrat PET. Une seule couche de matériau piézorésistif a été déposée par sérigraphie.

Ces tests ont été réalisés avec la machine de traction INSTRON (Figure 10). Ces deux capteurs sont soumis à un cycle de compression de 0 à 20 N avec une vitesse de 1 N/min.

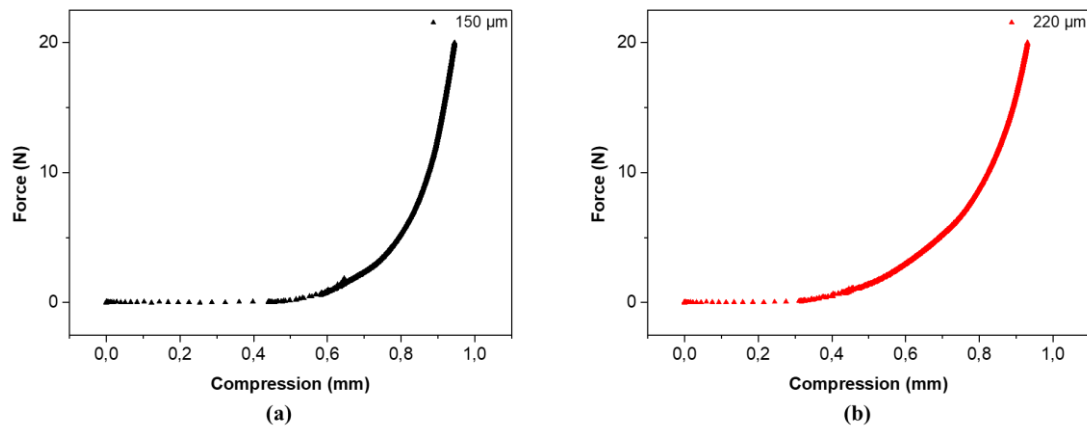


Figure 20 : Courbe de compression vs force pour le capteur avec une entretoise de (a) 150 μm et (b) 220 μm

La Figure 20 représente les deux cycles de compression appliqués aux deux capteurs avec une entretoise de 150 μm et 220 μm .

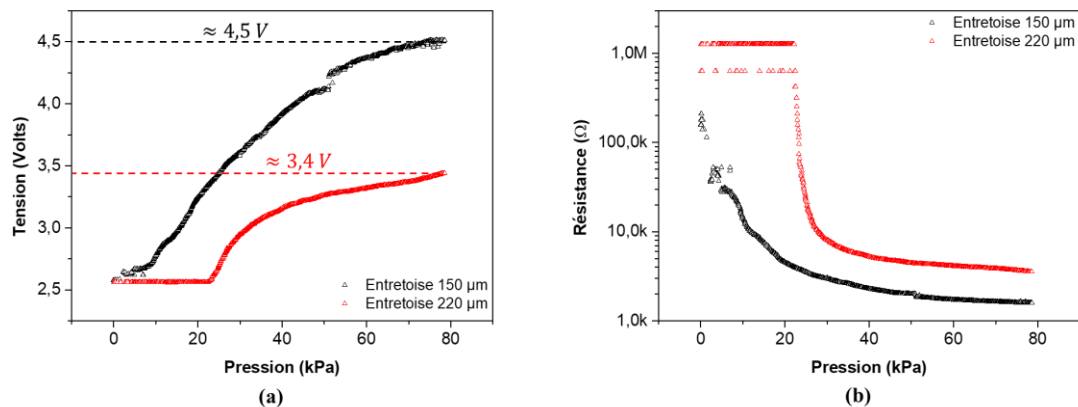


Figure 21 : (a) Variation de la tension du capteur de pression pour deux configurations avec une entretoise de 150 μm et 220 μm . (b) Variation de résistance correspondante.

La Figure 21 montre que, pour un substrat en PET, la réponse en tension est meilleure avec une entretoise de 150 μm notamment sur les pressions comprises entre 0 et 20 kPa. En outre, la sensibilité est meilleure et le phénomène de saturation en tension est moins marqué pour les fortes pressions, supérieures à 40 kPa. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'entretoise d'épaisseur de 220 μm est plus rigide que celle d'une épaisseur de 150 μm . Les entretoises utilisées pour réaliser des interrupteurs à membrane sont constituées d'une feuille en PET sur laquelle est déposée de part et d'autre une couche de colle acrylique. Dans le cas de celle dont l'épaisseur est de 220 μm , la feuille en PET fait 125 μm tandis que pour celle d'une épaisseur de 150 μm , la feuille ne fait que 50 μm .

La distance entre les électrodes et la couche de matériau piezorésistif est plus importante pour le capteur avec une entretoise de 220 μm . La membrane entre donc en contact avec les électrodes à une pression plus élevée pour l'entretoise de 150 μm .

A la suite de cette étude, le choix s'est porté sur l'entretoise avec une épaisseur de 150 μm .

Le capteur de pression flexible a été, ensuite, soumis à 10 cycles de charge et de décharge. Chacun de ces cycles présentent les caractéristiques suivantes (Figure 22) :

- Cycle de compression de 0 N à 20 N avec une pente de 5 N/minute
- Cycle de décharge de 20 N à 0 N avec une pente de 5 N/minute

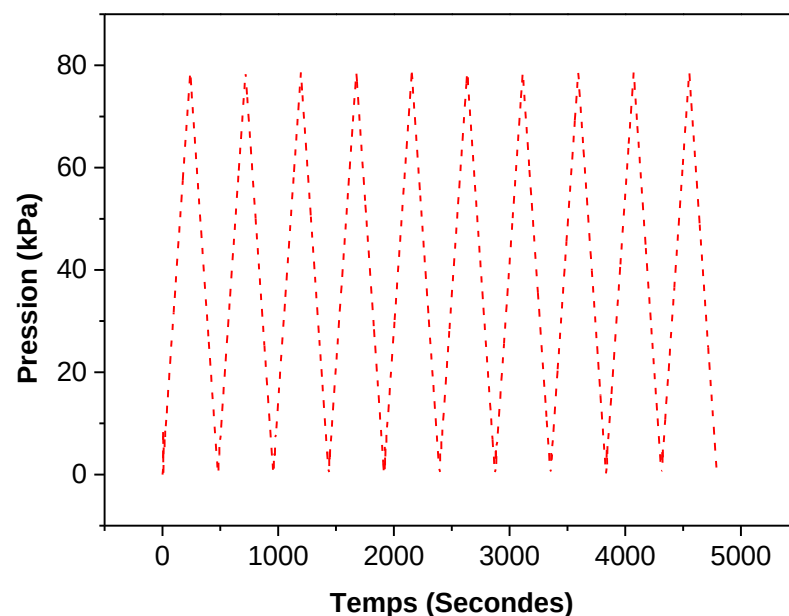


Figure 22 : 10 cycles de charge de 0 à 20 N et de décharge de 20 N à 0 N appliqués sur le capteur de pression

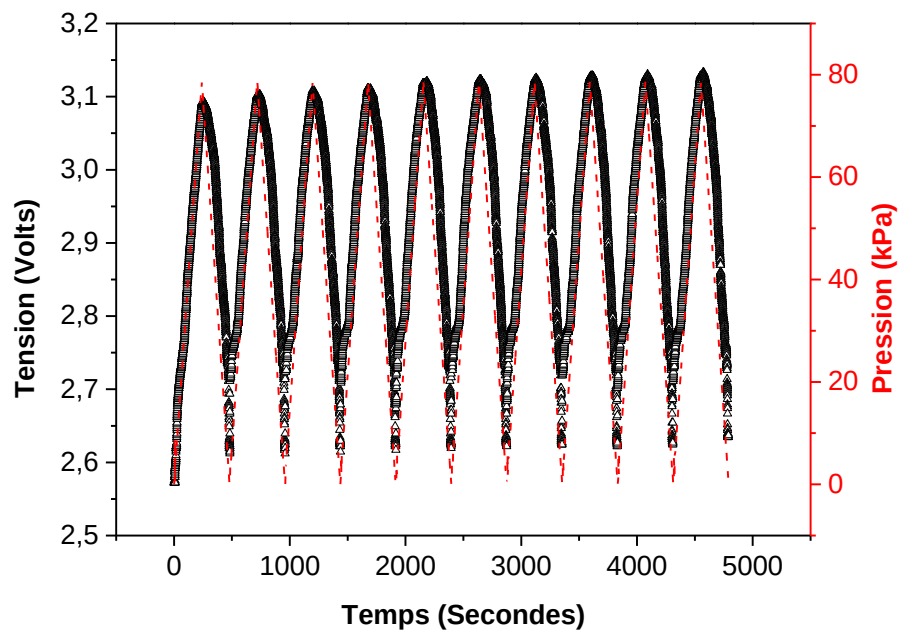


Figure 23 : Variation de la tension aux bornes du capteur de pression pendant les 10 cycles de charge et de décharge respectivement de 0 N à 20 N et de 20 N à 0 N

Sur la figure précédente (Figure 23), la réponse en tension du capteur reste homogène entre le premier et le dernier cycle. En revanche, le capteur de pression caractérisé semble présenter une caractéristique de fluage. En effet, pour chaque cycle de charge, la tension pour une force de 80 kPa tend à augmenter.

Cette observation est confirmée par la figure suivante (Figure 24).

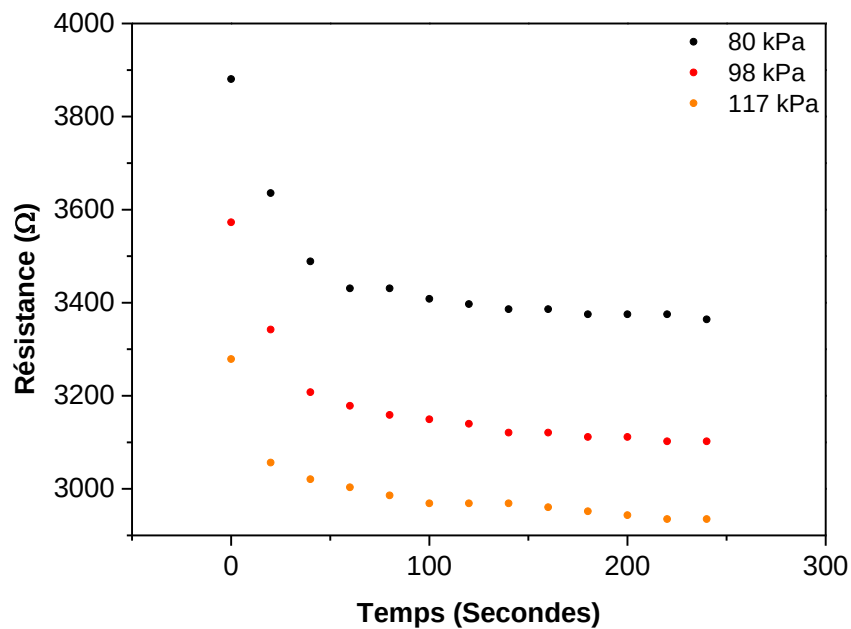


Figure 24 : Mise en évidence du comportement de fluage avec trois pressions appliquées sur le capteur de pression pendant 240 secondes

Sur la figure précédente, la résistance diminue fortement entre le premier échantillon et le troisième puis tend à se stabiliser. Ainsi, pour effectuer une lecture juste de la force et donc de la pression, il faut attendre environ 150 secondes.

4. Conception et fabrication d'une matrice grande surface de capteurs

4.1. Conception et validation de l'architecture

Afin de pouvoir mesurer, en temps réel, la pression sur une grande surface, il est nécessaire de créer un réseau de capteurs sensibles à la pression. Pour cela, le concept le plus performant de capteurs sensibles à la pression identifié à la partie précédente est démultiplié.

Cependant, l'entretoise doit être positionnée de telle façon à permettre une déformation optimale de la membrane piézorésistive pour conserver une sensibilité optimale

Une étude mécanique simple basée sur une simulation à éléments finis a été menée sur COMSOL Multiphysics.

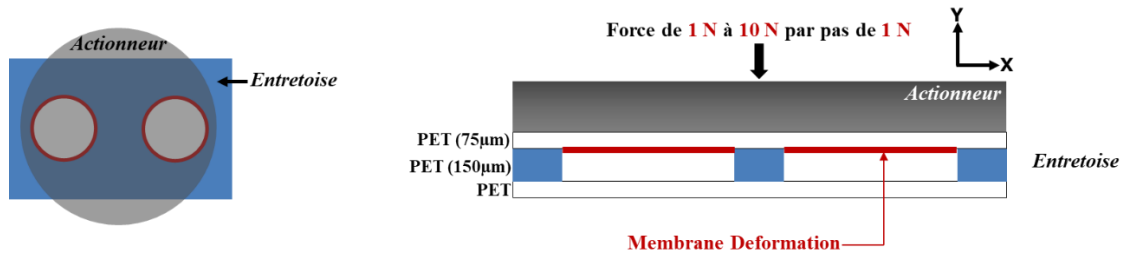


Figure 25 : Il s'agit de caractériser la réponse mécanique d'un réseau de deux capteurs si l'entretoise est placée autour de chacun. L'actionneur est représenté en gris.

La Figure 25 montre la configuration utilisée pour cette simulation. L'entretoise a été positionnée de manière individuelle autour de chaque capteur. Les substrats sont deux feuilles de PET d'une épaisseur de 75 μm . Deux hypothèses simplificatrices ont été utilisées. Tout d'abord, l'entretoise est considérée comme une feuille de PET d'une épaisseur de 150 μm . Ensuite, les contraintes mécaniques provenant du dépôt des encres sérigraphiques (couche mince) ne sont pas prises en compte. Les paramètres matériaux sont ceux disponibles dans les bibliothèques de COMSOL Multiphysics. Un balayage en force est appliqué sur l'actionneur entre 1 et 10 N par pas de 1 N. La déformation des membranes des deux capteurs est calculée lors de la simulation.

Le déplacement est seulement de 8 nm pour une force de 10 N. Les électrodes pourraient ne pas être en contact avec la polymère composite piezorésistif, empêchant ainsi la détection et la mesure de la force. L'entretoise ne peut pas donc pas être positionnée sur chaque capteur mais plutôt en périphérie de la matrice.

Un premier prototype de matrice composée de 32 capteurs de pression a été réalisé suivant le même procédé de fabrication qu'évoqué dans la partie Procédé de fabrication (Figure 26).

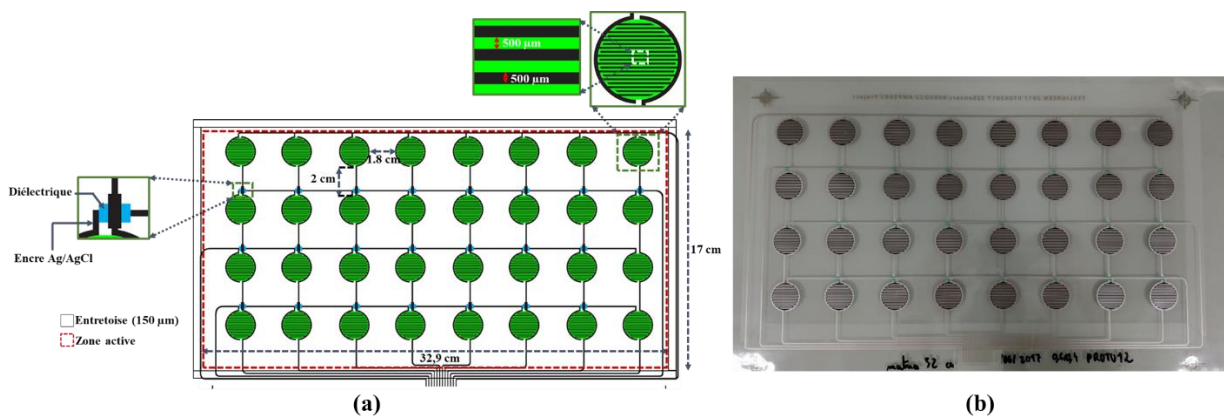


Figure 26 : (a) Matrice composée de 32 capteurs de pression (b) Prototype réalisé sur substrat PET

Les électrodes en Ag/AgCl ont été déposées sur le substrat en PET Lumirror® 60.28 de Toray d'une épaisseur de 75 µm par sérigraphie. Le polymère composite a également été déposé sur ce substrat par sérigraphie.

L'encre diélectrique UV-2560 de Conductive Compounds est utilisée afin de réaliser un pont entre lignes et colonnes et ainsi éviter des potentiels court-circuit entre lignes et colonnes et obtenir ainsi une configuration matricielle (Figure 31). Elle est recuite par UV avec une énergie de 2 J pendant une minute. Trois couches ont été nécessaires et ont été déposées par sérigraphie.

4.2. Calibration et caractérisation de la matrice de capteur

Le but de cette matrice de capteurs de pression est de pouvoir déterminer en temps réel cette dernière sur une grande surface avec une résolution suffisante. Pour cela, chacun des 32 capteurs a été calibré.

Une calibration linéaire simple a été réalisée pour rendre fonctionnelle cette matrice. Pour cela, chaque sous capteur unitaire est soumis à un balayage en force entre 1 N et 50 N par pas de 1 N. La tension associée à chaque sous-capteur est mesurée. Le banc de caractérisation a été modifié pour pouvoir accueillir la matrice (Figure 27).

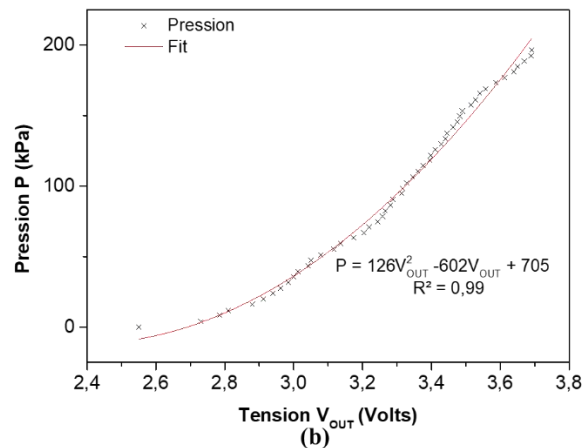
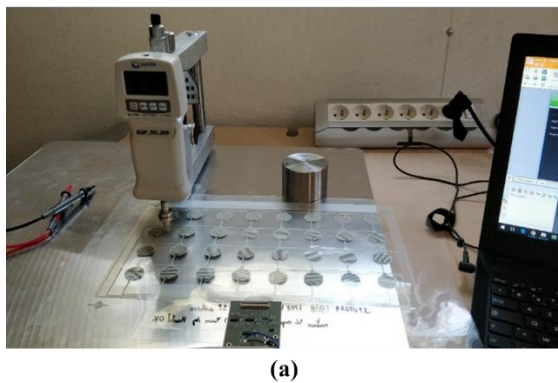


Figure 27 : (a) Calibration de chaque sous capteur de la matrice (b) Fit quadratique de la pression mesurée en fonction de la tension de sortie V_{OUT}

Pour déterminer la pression $P = f(V_{OUT})$, un fit quadratique a été utilisé. Le coefficient de détermination du fit est de 0,99 (Figure 27). L'idée est de faire correspondre ensuite chacun des polynômes avec son capteur et d'insérer dans le code embarqué ces derniers.

Afin de pouvoir mesurer en temps réel la distribution de pression, une carte électronique, son code embarqué ainsi qu'une interface graphique ont été développés.

4.3. Système électronique pour la lecture et le traitement des données de pression

La figure suivante (Figure 28) présente l'électronique locale utilisée pour balayer l'ensemble des capteurs de la matrice.

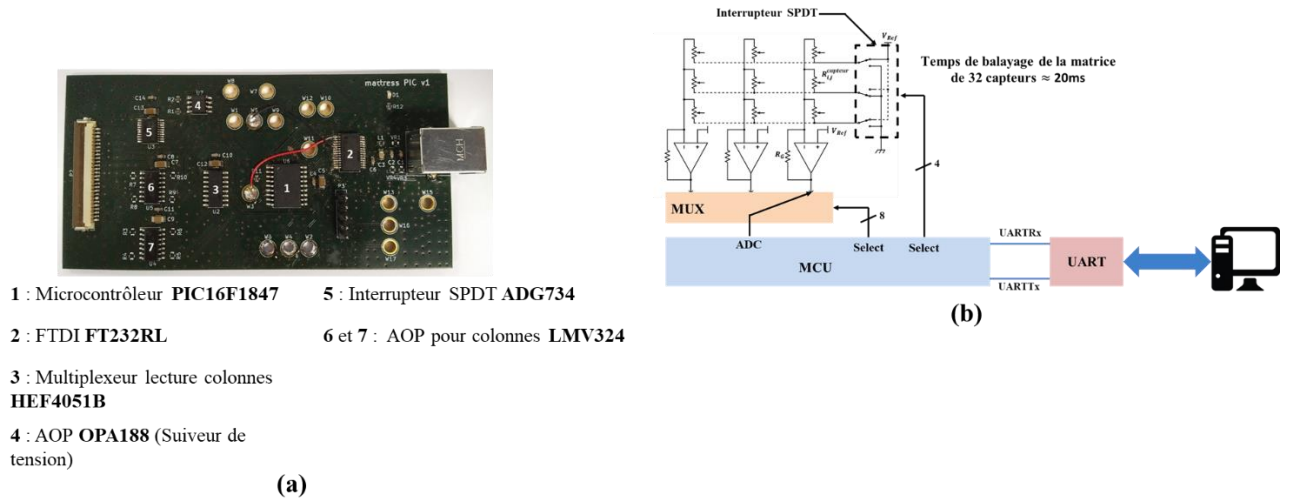


Figure 28 : (a) Carte électronique développée pour balayer les capteurs de la matrice. (b) Présentation simplifiée du schéma électronique.

Elle est basée sur un microcontrôleur PIC16F1847 qui contrôle les différents interrupteurs (SPDT, Multiplexeur 8 voies), stocke les données de l'ADC et les envoie via l'UART à l'ordinateur portable. Il est possible d'ajouter plus de capacités à ces capteurs en tirant partie des avantages de ce microcontrôleur. La Figure 28 (b) présente un schéma simplifié des blocs principaux de la Figure 28 (a). Avec cette architecture, chaque capteur présent dans la matrice est scanné et chacune des sorties de ces capteurs est lue.

Cette tension de sortie est donnée par l'expression suivante (montage non inverseur Figure 28 (b)) :

$$V_{out} = \left(\frac{R_G}{R_{i,j}^{capteur}} + 1 \right) V_{Ref} \quad (2.2)$$

Avec $R_{i,j}^{capteur}$ la résistance du capteur en position i ligne, j colonne dans la matrice, R_G la résistance du potentiomètre servant à ajuster le gain du montage non inverseur.

La Figure 29 montre la réponse de la matrice de capteurs lorsque la surface de cette dernière est soumise à une pression exercée avec les deux mains. Chacun des capteurs s'active bien indépendamment les uns des autres sans diaphonie.

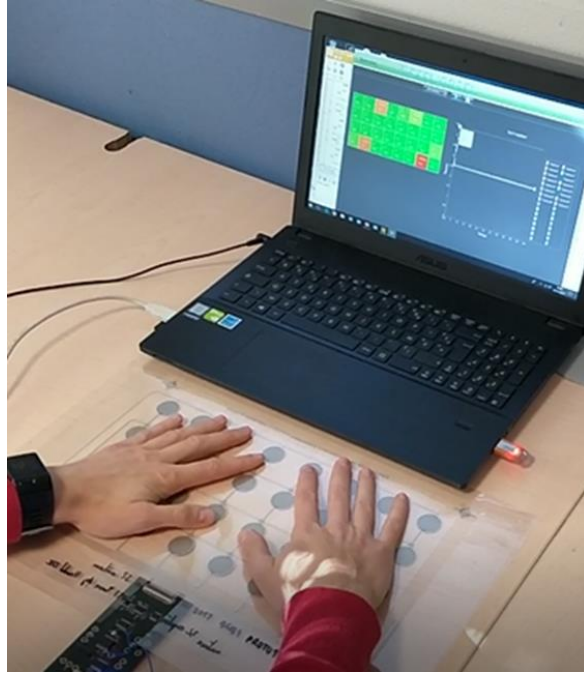


Figure 29 : Matrice de capteurs avec son électronique embarquée et son interface graphique pour la lecture des données soumise à une pression avec les deux mains

Un amplificateur opérationnel est nécessaire par colonne (Figure 28(b)). Leur but est de fixer la tension V_{Ref} sur toutes les colonnes. Ainsi, le potentiel des lignes ne contribuant pas est aussi fixée à la tension V_{Ref} , court-circuitant ainsi tous les chemins parasites. Cette technique dite de *grounding* est particulièrement utilisée dans le développement de grande surface tactile [16], [17]. Ces effets indésirables apparaissent lorsque plusieurs capteurs sont pressés autour du point à mesurer, ce qui fait que le point cible se comporte comme s'il était excité. La méthode de *grounding* consiste à mettre à la masse toutes les lignes inutilisées, tout en maintenant un potentiel constant sur la ligne où la tension est fournie. Ceci élimine les effets indésirables comme les courants fantômes qui sont mises à la mise par cette technique plutôt que d'atteindre le point de mesure.

La Figure 30 présente le résultat de l'application du potentiel V_{Ref} sur les lignes non utilisées grâce aux différents amplificateurs opérationnels pour les colonnes et à l'interrupteur SPDT connecté aux lignes de la matrice.

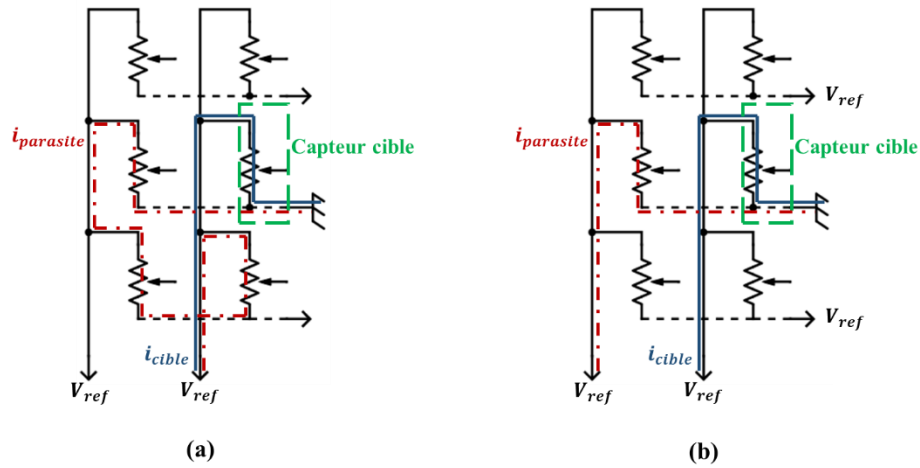


Figure 30 : Supprimer les courants parasites (a) avant de connecter les lignes inutilisées à la tension V_{ref} , le courant i_{cible} est perturbé par $i_{parasite}$ (b) en connectant les lignes inutilisées au potentiel V_{ref} grâce à l'interrupteur SPDT, le courant $i_{parasite}$ prend un chemin alternatif

Sans application de ce potentiel, la mesure du courant i_{cible} est perturbée par le courant $i_{parasite}$ (Figure 30(a)) alors que si un potentiel est appliqué sur les lignes inutilisées, le courant $i_{parasite}$ emprunte un autre chemin ne perturbant plus la lecture de la pression.

En plus de ce premier prototype de matrice, un autre type de substrat a été testé. Il s'agit du polyuréthane. Ce matériau est plus conforme que le PET. L'ensemble de la matrice a été réalisé dans ce matériau (Figure 31).



Figure 31 : Prototype fonctionnel réalisé sur substrat PU/ PET

Il faut 19,4 ms pour scanner l'ensemble des 32 capteurs de la matrice. L'actualisation de l'affichage sur l'interface graphique se fait toutes les secondes.

5. Conclusion

Un capteur flexible de pression piezorésistif peu coûteux, relativement simple à fabriquer et à mettre en œuvre a été développé.

Ce capteur est constitué d'électrodes interdigitées et d'une membrane piezorésistive. Les électrodes sont obtenues par sérigraphie d'une encre Ag/AgCl sur substrat flexible en PET. La membrane est créée, tout d'abord, par dépôt sérigraphique d'un polymère composite sur le même type de substrat que les électrodes puis par alignement et laminage avec une entretoise des électrodes et de la couche d'encre piezorésistive.

Un banc de caractérisation associée à une électronique et à une interface graphique a permis de caractériser la réponse en pression des capteurs. Il présente une sensibilité de $0,028 \text{ kPa}^{-1}$ entre 0 kPa et 35 kPa qui baisse à $0,00027 \text{ kPa}^{-1}$ entre 35 kPa et 80 kPa. Ces deux sensibilités sont suffisantes pour notre application car il s'agit de détecter des seuils de pression pendant un temps donné entraînant l'apparition d'escarre.

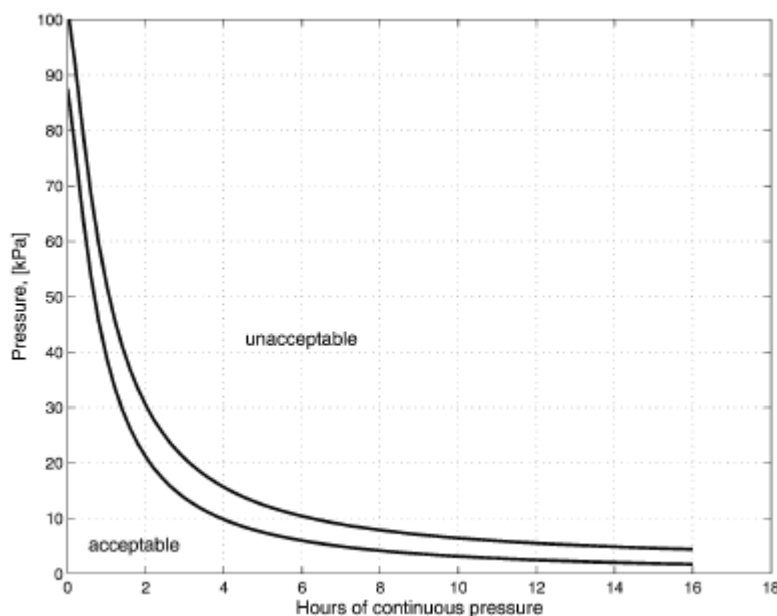


Figure 32 : Pressions acceptables vs temps d'application sur les tissus sous des proéminences osseuses. [18]

La Figure 32 indique les régimes acceptable et inacceptable d'application de la pression en fonction du temps sur des proéminences osseuses. On remarque qu'au-delà de 35 kPa, la différence en temps est ténue. Quelle que soit la pression exercée, il faut rapidement déplacer les parties du corps exposées. Ainsi, la perte en sensibilité au-dessus de 35 kPa n'est pas trop problématique pour notre application de détection d'ulcères de pression.

Le capteur possède une surface active de 3 cm^2 , 19 électrodes interdigitées d'une largeur de $500 \text{ }\mu\text{m}$. Chacune de ces électrodes sont distantes de $500 \text{ }\mu\text{m}$.

Le polymère composite chargé en particules de carbone présente une légère hystérésis de l'ordre de 10 % lors des tests de caractérisation. Classiquement, ce type de polymère présente

également un comportement de fluage [19] se traduisant par un retard de stabilisation lors d'une soumission à une contrainte constante de l'ordre de 100 s. Dernièrement, des algorithmes basés sur le partitionnement en K-moyennes et la reconnaissance de motifs basée sur la logique floue ont été mis en place pour compenser les effets de ce fluage [19].

Le capteur a particulièrement bien réagi aux différents tests de cyclage mécanique avec une stabilisation de sa réponse électrique au cours des différents cycles de contrainte mécanique.

Une première preuve de concept de matrice flexible de 32 capteurs couvrant une surface de 559 cm² a été développée. Cet ensemble de capteurs est associé à une électronique embarquée et à une interface graphique qui fournit une lecture et un affichage en temps réel, avec un rafraichissement toutes les secondes, de la pression.

Une approche textile a, également, été envisagée comme matériau piézorésistif. Le textile CARBOTEX de Sefar est composé de fibres faites à partir de polyamide recouvertes de carbone.

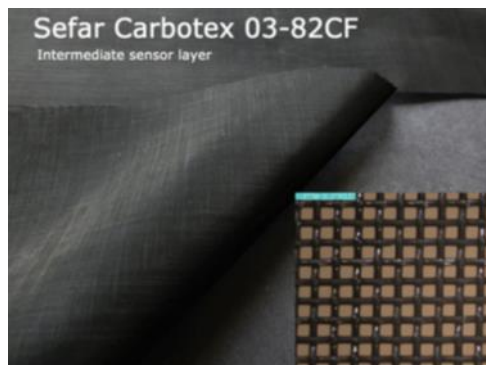


Figure 33 : Le textile de SEFAR recouvert de carbone. Le nombre 82 de la référence correspond à l'ouverture de la maille ici 82 μ m [20]

Différents tissus avec plusieurs ouvertures de maille ont été testés sur un capteur unitaire avec une entretoise de 220 μ m. Ils ont été soumis à un balayage en force entre 4 kPa et 80 kPa par pas de 4 kPa.

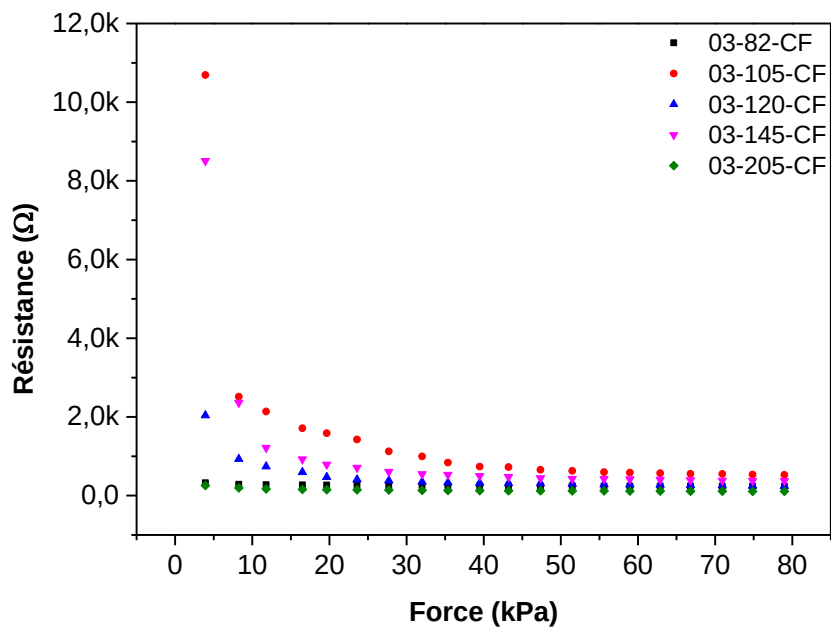


Figure 34 : Caractérisation des différents types de Carbotex selon l'ouverture de la maille

La figure précédente (Figure 34) met en évidence une variation de résistance aux bornes du capteur de pression avec le textile Carbotex. Cependant, cette variation est soit trop faible notamment pour les textiles 03-82-CF et 03-205-CF, soit restreinte à un intervalle de pression trop petit.

Références

- [1] P. Couturier, «Actimétrie corporelle bidimensionnelle chez le malade âgé fragile et alité par l'utilisation du surmatelas actimétrique,» Thèse, 2000.
- [2] I. Tekscan, «Embedded Force Sensors,» [En ligne]. Available: <https://www.tekscan.com/products-solutions/force-sensors/>. [Accès le 2019].
- [3] I. Interlink Electronics, «Force Sensing Resistor® (FSR) Sensor Series,» [En ligne]. Available: <https://www.interlinkelectronics.com/force-sensing-resistor>. [Accès le 2019].
- [4] S. P. Inc., «Tactilus® Real-Time Surface Pressure Mapping Technology,» [En ligne]. Available: <https://www.sensorprod.com/tactilus.php>. [Accès le 2019].
- [5] J. Jung, S. Lee, N. M. Pugno et S. Ryu, «Orientation Distribution Dependence of Piezoresistivity of Metal Nanowire-Polymer Composite,» *Multiscale Science and Engineering*, vol. 2, p. 54–62, 2020.

- [6] Y. He, W. Li, G. Yang, H. Liu, J. Lu, T. Zheng et X. Li, «A Novel Method for Fabricating Wearable, Piezoresistive, and Pressure Sensors Based on Modified-Graphite/Polyurethane Composite Films,» *Materials*, vol. 10, 2017.
- [7] H. Zhao et J. Bai, «Highly Sensitive Piezo-Resistive Graphite Nanoplatelet–Carbon Nanotube Hybrids/Polydimethylsilicone Composites with Improved Conductive Network Construction,» *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 7, p. 9652–9659, 2015.
- [8] M. Xu, F. Li, Z. Zhang, T. Shen et J. Qi, «Piezoresistive Sensors Based on rGO 3D Microarchitecture: Coupled Properties Tuning in Local/Integral Deformation,» *Advanced Electronic Materials*, vol. 5, 2018.
- [9] F. Xu, X. Li, Y. Shi, L. Li, W. Wang, L. He et R. Liu, «Recent Developments for Flexible Pressure Sensors: A Review,» *Micromachines*, vol. 9, 2018.
- [10] X. Zang, Y. Jiang, X. Wang, X. Wang, J. Jia et M. Xue, «Highly sensitive pressure sensors based on conducting polymer-coated paper,» *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 273, pp. 1195-1201, 2018.
- [11] M. Kalantari, J. Dargahi, J. Kövecses, M. G. Mardasi et S. Nouri, «A New Approach for Modeling Piezoresistive Force Sensors Based on Semiconductive Polymer Composites,» *IEEE/ASME Transactions on Mechatronics*, vol. 17, pp. 572-581, 2012.
- [12] S. Stassi, V. Cauda, G. Canavese et C. F. Pirri, «Flexible Tactile Sensing Based on Piezoresistive Composites: A Review,» *Sensors*, vol. 14, 2014.
- [13] X.-W. Zhang, Y. Pan, Q. Zheng et X.-S. Yi, «Time dependence of piezoresistance for the conductor-filled polymer composites,» *Journal of Polymer Science Part B Polymer Physics*, 2000.
- [14] M. Kalantari, J. Dargahi, J. Kövecses, M. G. Mardasi et S. Nouri, «A New Approach for Modeling Piezoresistive Force Sensors Based on Semi-Conductive Polymer Composites,» *IEEE/ASME Transactions on Mechatronics*, vol. 17, 2012.
- [15] L. Paredes-Madrid, A. Matute, J. O. Bareño, C. A. Parra Vargas et E. I. Gutierrez Velásquez, «Underlying Physics of Conductive Polymer Composites and Force Sensing Resistors (FSRs). A Study on Creep Response and Dynamic Loading,» *Materials*, vol. 10, 2017.
- [16] A. Drimus, M. B. Petersen et J. Jouffroy, «Development of flexible tactile sensors for hexapod robots,» *Proceedings of 15th International Conference MECHATRONIKA*, pp. 1-7, 2012.
- [17] D. Hillis, «A high-resolution imaging touch sensor,» *International Journal of Robotics Research*, 1982.
- [18] D. Bader, C. Bouten, D. Colin et C. Oomens, *Pressure Ulcer Research*, Springer, 2005.

- [19] J. Ye, Z. Lin, J. You, S. Huang et H. Wu, «Inconsistency Calibrating Algorithms for Large Scale Piezoresistive Electronic Skin,» *Micromachines*, 2020.
- [20] S. Schneegass et O. Amft, *Smart Textiles Fundamentals, Design, and Interaction*, Springer, 2017.

Chapitre 3

Détection d'escarres et suivi d'évolution par spectroscopie d'impédance

1. La bioimpédance dans la physiologie cutanée	125
1.1. Introduction.....	125
1.2. Les modèles électriques de conduction et leur limite	128
1.3. La corrélation entre les propriétés biologiques des tissus et la bioimpédance	143
2. La spectroscopie d'impédance : généralités et mise en pratique	149
2.1. Stratégie adoptée	149
2.2. Mesure d'impédance et instrumentation	151
2.3. Fabrication et test d'électrodes conformables adaptées à la caractérisation de tissus vivants	155
3. Mise en évidence de l'ulcère de pression sur tissu murin par bioimpédance	167
3.1. Modèle murin de l'ulcère de pression.....	167
3.2. Protocole expérimental	169
3.3. Analyse des résultats et discussion	175
4. Conclusion et perspectives	198
Références	202

1. La bioimpédance dans la physiologie cutanée

1.1. Introduction

La spectroscopie d'impédance est une méthode relativement récente et puissante permettant de caractériser les propriétés électriques des matériaux et leurs interfaces avec différentes électrodes. Cette technique peut aussi servir pour étudier les propriétés diélectriques et semi-conducteurs de divers matériaux solides, liquides : ionique, électronique, mixe entre ces deux derniers [1]. Généralement, le matériau est stimulé électriquement avec un courant ou une différence de potentiel, au travers d'électrodes. Ces stimuli provoquent une réponse électrique dans le matériau qui est ensuite analysée. Il existe plusieurs types de stimuli électriques utilisés dans la spectroscopie d'impédance. Tout d'abord, des mesures peuvent être réalisées, en régime transitoire, en appliquant un échelon de tension $V(t)$ tel que $V(t) = 0$ pour $t < 0$ et $V(t) = V_0$ pour $t > 0$. Le courant résultant $i(t)$ est, ensuite, mesuré. L'impédance est, enfin, déduite du rapport $V_0/i(t)$ [2]. Ce rapport ne correspond pas réellement à l'impédance telle que l'on la définit dans la spectroscopie d'impédance. En effet, cette quantité ne possède pas de dépendance fréquentielle. Aussi, une transformée de Fourier ou de Laplace est souvent appliquée à cette grandeur pour obtenir une correspondance dans le domaine fréquentiel.

Ensuite, une tension continue $v(t)$ composée d'un bruit blanc aléatoire est appliquée au matériau à caractériser [3]. Le courant résultant est ensuite mesuré. Comme avec la technique précédente, une transformée de Fourier doit être utilisée pour passer dans le domaine fréquentiel et en déduire l'impédance. L'inconvénient de cette technique de mesure est la nécessité de générer un bruit blanc et d'effectuer une analyse de Fourier.

Enfin, la dernière méthode est celle qui est le plus couramment adoptée. Une tension ou un courant sinusoïdal à une fréquence donnée est appliqué au matériau. Le courant ou la différence de potentiel généré au sein de ce matériau, dépendant de la fréquence, est mesuré. A cette fréquence, le module et le déphasage ou les parties réelles et imaginaires du courant ou de la tension résultant peuvent être évalués en utilisant soit des circuits analogiques ou de l'analyse de Fourier (FFT). Il existe de nombreux équipements disponibles dans le commerce. Ils sont capables de déterminer, automatiquement, l'impédance dans une très large gamme de fréquences généralement entre quelques mHz et quelques dizaines de MHz. Ils présentent, aussi, l'avantage d'être pilotable par un ordinateur et sont faciles d'accès pour l'expérimentateur.

D'autres *stimuli* ont été utilisés, ces dernières années, en spectroscopie d'impédance comme des signaux carrés, des fonctions Gaussiennes et leurs dérivées ou encore des *chirps*, signaux pseudopériodiques modulés en fréquence autour d'une fréquence porteuse et également en amplitude par une enveloppe [4]. Le signal *chirp*, reposant sur un balayage en fréquence avec des signaux courts, permet la caractérisation de tissus sur une large bande de fréquence et sur un temps très court [5]. Différentes méthodes d'excitation basées sur l'utilisation de signaux binaires ont été investiguées [6]. Ces formes d'onde binaire discrètes peuvent être générées simplement et possèdent une énergie d'excitation supérieure à des signaux comparables basés sur des ondes sinusoïdales [7]. Enfin, avec cette technique, le rapport signal sur bruit s'accroît.

Un signal sinusoïdal $v(t) = V_0 \cdot \sin(\omega t)$ de fréquence $\nu = \frac{\omega}{2\pi}$ est appliqué à l'élément à caractériser. Le courant induit par ce signal, en régime permanent, $i(t) = I_0 \cdot \sin(\omega t + \theta)$ est mesuré. La grandeur θ correspond au déphasage entre cette tension et ce courant. Elle est égale à 0 pour un comportement purement résistif.

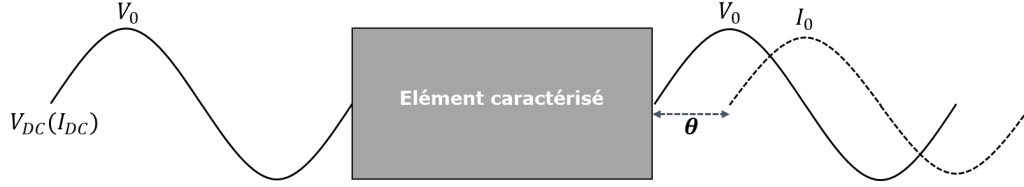


Figure 1 : Déphasage θ du courant $i(t) = I_0 \cdot \sin(\omega t + \theta)$ lors de la caractérisation par spectroscopie d'impédance avec une onde sinusoïdale $v(t) = V_0 \cdot \sin(\omega t)$

La relation existant entre les propriétés du système électrique et la réponse à une excitation avec un courant ou une tension sinusoïdale est, dans le domaine temporel, très complexe. Dans ce domaine, il est nécessaire de résoudre un système d'équations différentielles rapidement inextricable. En effet, les réponses des composantes inductives et capacitives de l'impédance s'expriment, respectivement, par $v(t) = L \cdot \frac{di(t)}{dt}$ et $i(t) = C \cdot \frac{dv(t)}{dt}$.

Le passage dans le domaine fréquentiel permet d'alléger le problème d'un point de vue mathématiques. En notation complexe, les deux dernières relations deviennent, respectivement, $V(j\omega) = L \cdot j\omega I(j\omega)$ et $I(j\omega) = C \cdot j\omega V(j\omega)$ avec $j \equiv \sqrt{-1}$. Il existe, également, dans ce domaine, une loi d'Ohm définie par le rapport :

$$Z(j\omega) = \frac{V(j\omega)}{I(j\omega)} \quad (3.1)$$

La grandeur Z correspond à l'impédance électrique. Pour un condensateur, elle vaut $\frac{1}{jC\omega}$ et pour une inductance, $jL\omega$. Ce concept d'impédance fut introduit, pour la première fois, dans les années 1880 par Olivier Heaviside [8]. Arthur Kennelly fut le premier à représenter l'impédance grâce à des nombres complexes en 1893 [9]. L'impédance est un concept plus généraliste que la résistance car elle prend en compte les éléments inductifs et capacitifs introduisant un déphasage entre courant et tension. L'équation (3.1) indique que l'impédance varie avec la fréquence.

L'impédance peut s'exprimer, dans le plan complexe, sous la forme suivante :

$$Z(j\omega) = R + jX \quad (3.2)$$

L'impédance $Z(j\omega)$ peut se représenter en coordonnées cartésiennes ou polaires de la façon suivante :

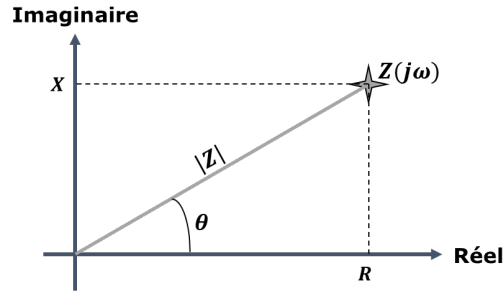


Figure 2 : Représentation en coordonnées polaires et cartésiennes de l'impédance complexe $Z(j\omega)$

La grandeur R désigne la résistance (Ω) (en phase) et X la réactance (Ω) (en déphasage).

En coordonnées polaires, l'impédance est égale à :

$$Z(j\omega) = |Z|e^{j\theta} \quad (3.3)$$

Le nombre $|Z| = \sqrt{R^2 + X^2}$ correspond au module de l'impédance complexe et $\theta = \text{atan2}(X, R)$ à l'argument ou phase de l'impédance.

L'impédance, comme nous l'avons vu, est, par définition, une quantité complexe. Lorsque sa partie imaginaire est nulle, $Z(j\omega)$ est égale à R , ce qui correspond à un comportement purement résistif. Dans ce cas, l'impédance est indépendante de la fréquence. En revanche, lorsque la partie réelle de l'impédance varie avec la fréquence, les relations de Kronig-Kramers, reliant partie réelle et imaginaire, impliquent que la partie imaginaire (ou l'argument) de l'impédance doit être non nulle et doit varier avec la fréquence. Il faut, donc, pour que $Z(j\omega)$ soit purement réel, que R soit indépendant de la fréquence et donc une résistance linéaire.

Il existe d'autres quantités liées à l'impédance. L'admittance Y correspond à la réciproque de l'impédance. Elle s'exprime en siemens (S) et est définie comme suit :

$$Y = \frac{1}{Z(j\omega)} = \left(\frac{1}{R^2 + X^2}\right)(R - jX) \quad (3.4)$$

L'admittance, comme l'impédance, peut s'exprimer dans le plan complexe :

$$Y = G + jB \quad (3.5)$$

Dans l'expression (3.5), G correspond à la conductance et est égale à :

$$G = \frac{R}{R^2 + X^2} = \frac{\text{Re}(Z(j\omega))}{|Z|^2} \quad (3.6)$$

La partie imaginaire B désigne la susceptance et vaut :

$$B = -\frac{X}{R^2 + X^2} = -\frac{\text{Im}(Z(j\omega))}{|Z|^2} \quad (3.7)$$

Le module et la phase de l'admittance sont donnés par :

$$|Y| = \sqrt{G^2 + B^2} = \frac{1}{\sqrt{R^2 + X^2}} \quad (3.8)$$

$$\angle Y = \text{atan2}(B, G) \quad (3.9)$$

1.2. Les modèles électriques de conduction et leur limite

L'application d'un champ électrique à un matériau engendre soit une perte d'énergie, qui se traduit par un dégagement de chaleur, provoquée par le mouvement de friction des porteurs de charge, soit un stockage à cause de la polarisation de ce matériau. Il peut, ainsi, exister une dualité dans les propriétés électriques des matériaux, et plus particulièrement des tissus. Ces derniers peuvent se comporter comme un conducteur ou un diélectrique. Un conducteur électrolytique est caractérisé par son immittance, un diélectrique par sa permittivité ou sa capacité.

Un matériau diélectrique peut être défini comme un matériau ne possédant pas de charges libres susceptibles de se déplacer sous l'application d'un champ électrique. Cette définition s'oppose à celle d'un matériau conducteur présentant des porteurs de charge, ions ou électrons, capables de se mouvoir librement. Étymologiquement, un diélectrique est un matériau que le champ électrique pénètre, du Grec *dia* signifiant à travers.

Les tissus vivants sont des matériaux biologiques humides se comportant comme des conducteurs électrolytiques et possédant une conductivité DC. L'étude par impédance des tissus vivants est donc compliquée. Il faut tenir compte entre autres de l'hydratation, de l'interface entre l'électrolyte et la peau et de la polarisation de l'électrode.

Il existe trois théories principales sur les diélectriques appliquées aux biomatériaux. La première et l'une des plus anciennes, date du dix-huitième siècle et se base sur les travaux de Coulomb permettant la formulation de la loi de Coulomb. Cette dernière se base sur la relation existante entre deux particules statiques chargées et les forces mécaniques s'exerçant entre elles. Au dix-neuvième siècle, Maxwell a réussi à synthétiser harmonieusement les différentes

lois Expérimentales découvertes par ses prédécesseurs : lois du magnétisme, de l'électrostatique ou encore de l'induction. La théorie de Debye a été développée au vingtième siècle et considère les molécules comme des matériaux polaires avec une relaxation de type exponentielle. Cependant, les expériences ont montré que la plupart des diélectriques ne possèdent pas ce type de relaxation mais plutôt une relaxation de type puissance (ω^α). Enfin, les modèles de type Cole sont apparus en introduisant les éléments à phase constante (*Constant Phase Element*).

Comme nous l'avons vu précédemment, un diélectrique ou un isolant est un milieu ne contenant pas de charges susceptibles de se déplacer par opposition au milieu conducteur possédant des porteurs de charge (ions ou électrons) libres de migrer. Cependant, même pour les milieux diélectriques, les charges électriques négatives et positives liées dans les atomes ou les molécules peuvent se déplacer localement, dans un volume confiné, sous l'application d'un champ électrique. Ces déplacements localisés peuvent conduire à la création de dipôles électriques. Le matériau diélectrique se retrouve alors polarisé. Ce phénomène de polarisation peut être définie de la manière suivante :

La polarisation, dans le volume d'un biomatériau, est la perturbation de la distribution de charges dans ce volume induite par le champ électrique.

La susceptibilité électrique χ décrit la capacité d'un matériau diélectrique à se polariser sous l'action d'un champ électrique. Cette grandeur physique détermine, à son tour, la permittivité électrique du matériau. Cette susceptibilité est une constante de proportionnalité, qui peut aussi être un tenseur, reliant champ électrique $\vec{E}$ à la densité de polarisation diélectrique induite $\vec{P}$ ($[C.m^{-2}]$) telle que :

$$\vec{P} = \varepsilon_0 \chi \vec{E} \quad (3.10)$$

L'expression précédente est valable dans un milieu diélectrique homogène, linéaire et isotrope.

Dans l'expression précédente, la quantité ε_0 désigne la permittivité du vide ($\varepsilon_0 \approx 8,854187817 \times 10^{-12} F.m^{-1}$). Une susceptibilité nulle engendre une polarisation nulle. La susceptibilité du vide est nulle. Cependant, la polarisation ne pouvant être mesurée, la notion de déplacement électrique ou flux électrique $\vec{D}$ est plutôt privilégiée pour quantifier la perturbation du champ électrique. Ce déplacement est le produit de la quantité de charges déplacées par la distance parcourue ($[C.m]$). Le flux électrique de déplacement $\vec{D}$ a pour expression :

$$\vec{D} = \varepsilon_0 \vec{E} + \vec{P} \quad (3.11)$$

Dans l'expression (3.11), le terme $\varepsilon_0 \vec{E}$ correspond à l'induction électrique du vide. En outre, comme nous le verrons ensuite, l'équation (3.11) met en exergue la relation entre permittivité et polarisation.

En combinant les équation (3.10) et (3.11), une nouvelle expression peut être obtenue :

$$\vec{D} = \varepsilon_0(1 + \chi)\vec{E} = \varepsilon\vec{E} \quad (3.12)$$

Dans l'équation (3.12), la grandeur $\varepsilon_0(1 + \chi)$ est la permittivité. La permittivité relative ε_r est égale à $1 + \chi$. Cette permittivité relative est définie comme suit :

$$\varepsilon_r = \frac{\varepsilon}{\varepsilon_0} \quad (3.13)$$

La permittivité permet de quantifier la densité volumique du moment dipolaire créée par un champ électrique.

Lorsque la permittivité relative est égale à 1, aucune polarisation n'est possible. Plus cette valeur s'approche de 0, plus le matériau possède une possibilité de polarisation accrue.

Il existe quatre types de polarisation. Ces mécanismes ne possèdent pas tous la même cinétique. Certains permettent une polarisation immédiate. D'autres nécessitent un temps d'établissement. Ces différentes vitesses permettent d'introduire la notion de temps de relaxation.

Polarisation électronique

Cette polarisation résulte de très petits déplacements en translation du noyau électronique par rapport au noyau que ce soient dans les atomes ou dans les molécules. Le déplacement des électrons est de l'ordre de la picoseconde. La dispersion se situe, donc, dans la région du gigahertz. Les dipôles électriques induits lors de la polarisation sont orientés dans la direction du champ électrique et ne subissent aucune rotation.

Polarisation d'orientation

Les molécules peuvent former des dipôles permanents influencés par le champ électrique extérieur appliqué. La polarisation d'orientation se produit lorsqu'il y a un moment dipolaire permanent dans le matériau. Elle est en lien avec l'orientation de ce dipôle. Ce type de polarisation se produit dans les gaz et les liquides. C'est par exemple le cas des molécules d'eau qui sont asymétriques et donc polaires. En revanche, dans les solides, la rotation des dipôles est en général bloquée. Ce processus d'orientation est plutôt rapide. Les fréquences de relaxation n'apparaissent qu'à partir de quelques GHz.

Polarisation ionique

Il s'agit du déplacement d'espèce ionique de signes opposés en présence d'un champ électrique. Par rapport à la polarisation électronique qui correspond au déplacement du nuage d'électrons par rapport au noyau, la polarisation ionique est le déplacement des ions les uns par rapport aux autres.

Polarisation d'interface

Elle est provoquée par l'accumulation de charges mobiles aux interfaces séparant deux milieux. Il faut qu'au moins un des milieux possèdent des charges libres de migrer localement.

Un matériau, en plus de son comportement diélectrique, peut également avoir une composante conductrice. En effet, ce matériau peut posséder des charges libres qui sont susceptibles de se déplacer sous l'application d'un champ électrique.

La loi d'Ohm traduit la capacité d'un matériau à conduire le courant sous l'application d'un champ électrique. Elle s'exprime sous la forme suivante :

$$\vec{J} = \sigma \vec{E} \quad (3.14)$$

La quantité σ correspond à la conductivité électrique du milieu. Elle s'exprime en S/m. Le vecteur $\vec{J}$ est la densité de courant, quantité de charges traversant une section du matériau par unité de surface et de temps et exprimée en A/m². Le vecteur $\vec{E}$ est le champ électrique appliqué au matériau. L'effet Joule provoqué par la circulation du courant dans le matériau s'exprime comme suit :

$$P = \vec{J} \cdot \vec{E} = \sigma \|\vec{E}\|^2 \quad (3.15)$$

En régime sinusoïdal, la relation (3.15) devient :

$$P = \frac{1}{2} \sigma \|\vec{E}\|^2 \quad (3.16)$$

Au sein des matériaux, les charges électriques qui contribuent à la conductivité électrique, peuvent être de différents types. En effet, dans les métaux, les électrons non liés à des atomes sont les charges électriques libres de se déplacer sans entraîner un réel mouvement de la matière. Pour les solutions ioniques, en revanche, les ions, porteurs de charge, sont libres de se déplacer sous l'application d'un champ électrique. Le principal mécanisme de l'iontophorèse, l'électromigration, repose sur ce principe. Les porteurs de charges ne sont pas, dans ce cas, des électrons mais des espèces ionisées ou des atomes. Il y a donc un réel transport de matière à contrario des métaux.

La migration des charges qui mène à la polarisation n'est pas instantanée. Il existe une certaine inertie au sein du matériau. Ce phénomène a deux conséquences. Tout d'abord, un dégagement de chaleur apparaît au sein du matériau causé par la dissipation inhérente de l'énergie électromagnétique. On parle alors de diélectrique à pertes. Ensuite, au sein du matériau, les dipôles s'orientent avec un certain retard par rapport au champ électrique pouvant provoquer un déphasage entre la densité de flux électrique $\vec{D}$ et le champ électrique $\vec{E}$ si ce dernier est sinusoïdal.

En régime alternatif, il est nécessaire d'avoir recours au formalisme complexe. Ainsi le flux électrique de déplacement défini par la relation (3.12) devient :

$$\vec{D}(\omega) = \underline{\varepsilon}(\omega) \vec{E}(\omega) \quad (3.17)$$

Dans l'expression précédente, la permittivité du diélectrique est un nombre complexe tel que :

$$\underline{\varepsilon}(\omega) = \varepsilon_0(\varepsilon'(\omega) - j\varepsilon''(\omega)) \quad (3.18)$$

Cette permittivité complexe est utilisée quand le matériau est considéré comme un diélectrique avec des pertes.

La partie imaginaire de la permittivité complexe $\varepsilon''(\omega)$ (facteur de pertes) est attribuée aux phénomènes de relaxation des charges électriques liées et des dipôles. Ces phénomènes provoquent une perte d'énergie au sein du matériau impossible à distinguer de la perte due à la conductivité des porteurs libres quantifiée par la conductivité σ .

La partie réelle $\varepsilon'(\omega)$ représente la permittivité sans perte qui peut varier avec la fréquence.

L'angle de perte δ ou facteur de dissipation est défini par :

$$\tan \delta = \frac{\varepsilon''(\omega)}{\varepsilon'(\omega)} \quad (3.19)$$

Il s'agit de l'énergie perdue par cycles divisée par l'énergie stockée par cycles.

Comme évoqué précédemment, il ne peut pas y avoir de migration de charges électriques au sein d'un matériau diélectrique. Cependant, l'application d'un champ électrique peut provoquer un déplacement local de ces charges. Ce déplacement est matérialisé par le champ $\vec{D}$.

En électromagnétisme, la densité de courant de déplacement $\vec{J}_D$ est donnée par la dérivée temporelle du champ de déplacement $\vec{D}$ défini par la relation (3.11). On obtient alors :

$$\vec{J}_D = \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} = \varepsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} + \frac{\partial \vec{P}}{\partial t} \quad (3.20)$$

Le premier terme $\varepsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t}$ correspond à la densité de courant de déplacement dans le vide. Le second $\frac{\partial \vec{P}}{\partial t}$ renvoie à la densité de courant de polarisation. Il s'agit de la moyenne des courants microscopiques produits par de faibles déplacements de charges.

En se plaçant en régime harmonique, la densité de courant de déplacement devient :

$$\underline{\vec{J}}_D(\omega) = j\omega \underline{\vec{D}}(\omega) = j\omega \underline{\varepsilon}(\omega) \underline{\vec{E}}(\omega) \quad (3.21)$$

Cette densité de courant de déplacement a les mêmes unités que la densité de courant et est une source de champ magnétique comme le courant. Cependant, il ne s'agit pas ici d'un courant provoqué par un mouvement de charges mobiles mais d'un champ électrique variable dans le temps.

Il est intéressant de noter que la relation (3.21) est analogue à loi d'Ohm pour les milieux conducteurs. En effet, cette relation met en exergue la dépendance entre le champ électrique qui est appliqué au milieu et la densité de courant qui en résulte.

En reprenant cette identification avec la loi d'Ohm complexe, il est possible de définir la notion de conductivité complexe $\underline{\sigma}(\omega)$ associée au milieu diélectrique définie par :

$$\underline{\sigma}(\omega) = j\omega\underline{\varepsilon}(\omega) \quad (3.22)$$

L'équation (3.22) devient en utilisant la relation (3.18) :

$$\underline{\sigma}(\omega) = \varepsilon_0(\omega\varepsilon''(\omega) + j\omega\varepsilon'(\omega)) \quad (3.23)$$

La conductivité sera composée d'un terme réel et imaginaire si le diélectrique possède des pertes. En revanche, s'il ne subsiste pas de pertes dans le matériau diélectrique alors la conductivité sera purement imaginaire ($\varepsilon''(\omega) = 0$). Le courant de déplacement est alors déphasé de $-\frac{\pi}{2}$ par rapport au champ électrique.

Un matériau conducteur parcouru par un courant électrique dégage de la chaleur par effet Joule. Une analogie peut être faite avec les pertes dans un diélectrique lorsque ce dernier est soumis avec un champ électrique variable d'amplitude E . La puissance dissipée est telle que :

$$P = \frac{1}{2}\omega\varepsilon_0\varepsilon''.E^2 = \frac{1}{2}\omega\varepsilon_0\varepsilon'E^2 \tan \delta \quad (3.24)$$

Le facteur de pertes $\varepsilon''(\omega)$ est ainsi proportionnel à la quantité d'énergie perdu par période.

Comme nous l'avons évoqué précédemment, il existe de nombreux matériaux possédant un comportement à la fois conducteur et isolant. Par exemple, les tissus présentent cette dualité dans leurs propriétés électriques. Ils conduisent l'électricité, leurs impédances varient avec la fréquence. Le mécanisme de conduction au sein des tissus biologiques est le mouvement d'ions. Il est reconnu que les propriétés électriques des tissus sont déterminées par les cellules au travers leurs structures et leurs membranes. Il en est de même pour les solutions ioniques comme l'eau salée qui possède une conductivité ionique à cause des ions présents mais aussi une polarisation électrique car les molécules d'eau sont polaires et peuvent s'orienter sous l'action d'un champ électrique.

La densité de courant, dans ce type de matériau, est la somme des densités de courant de conduction et de déplacement :

$$\underline{\vec{J}} = \underline{J}_c + \underline{\vec{J}}_D \quad (3.25)$$

En remplaçant dans l'équation (3.25), les densités de courant de conduction et de déplacement par leurs expressions respectives, on obtient :

$$\vec{J} = \sigma \vec{E} + j\omega \underline{\varepsilon}(\omega) \vec{E} = (\sigma + j\omega \underline{\varepsilon}(\omega)) \vec{E} \quad (3.26)$$

Dans l'expression précédente, en remplaçant la permittivité $\underline{\varepsilon}(\omega)$ par son équation (3.23), la densité de courant devient :

$$\vec{J} = [(\sigma + \omega \varepsilon_0 \varepsilon''(\omega)) + j\omega \varepsilon_0 \varepsilon'(\omega)] \vec{E} \quad (3.27)$$

Dans la relation précédente, par analogie avec la loi d'Ohm, il est possible de définir la conductivité complexe $\underline{\sigma}$ telle que :

$$\underline{\sigma}(\omega) = (\sigma + \omega \varepsilon_0 \varepsilon''(\omega)) + j\omega \varepsilon_0 \varepsilon'(\omega) \quad (3.28)$$

En ne considérant uniquement que les pertes diélectriques et en négligeant la conduction, on retrouve la relation donnant l'angle de perte δ définie en (3.19).

La partie réelle $\sigma + \omega \varepsilon_0 \varepsilon''(\omega)$ représente les pertes diélectriques avec ε'' et les pertes ohmiques avec σ .

Ainsi la puissance dissipée dans un matériau possédant des propriétés diélectriques et conductrices s'exprime :

$$P = \frac{1}{2} \sigma(\omega) \cdot E^2 \quad (3.29)$$

La puissance dissipée est donc la somme des pertes par effet Joule et par pertes diélectriques, respectivement indépendant et dépendant de la fréquence.

On ne peut, pour un matériau présentant des propriétés conductrices et diélectriques, donc pas négliger les pertes par conduction. Ainsi l'angle de pertes s'exprime alors :

$$\tan \delta = \frac{\varepsilon''(\omega) + \frac{\sigma}{\omega \varepsilon_0}}{\varepsilon'(\omega)} \quad (3.30)$$

Les différents types de polarisation décrits précédemment ont été considérés comme une propriété statique du matériau ne dépendant pas du temps mais uniquement du champ électrique extérieur appliqué.

Lorsqu'un champ électrique de direction et d'intensité variable dans le temps est appliqué à un matériau, la polarisation ainsi que le déplacement des charges sont considérés comme synchrones avec ce champ. Cependant, cette polarisation et ce déplacement n'ont pas lieu instantanément. Ce phénomène s'amplifie avec la fréquence. Plus cette dernière est élevée,

moins la permittivité et la polarisation seront élevées. Debye a utilisé ce concept physique en référence au temps nécessaire aux molécules dipolaires pour s'orienter.

Cette dépendance temporelle peut être caractérisée par l'introduction du concept de relaxation. On peut définir ce concept comme suit :

La relaxation est l'ensemble des phénomènes qui se produisent spontanément lorsque l'équilibre d'un système physique a été rompu et grâce auxquels le système revient progressivement à l'état d'équilibre.

Ainsi, dans un matériau soumis à un champ électrique, la relaxation du système de charges se traduit par le retour à leur état d'équilibre après une excitation électrique ou une polarisation pour un matériau diélectrique. Ce nouvel état d'équilibre est atteint, pour un matériau diélectrique, quand tous les dipôles sont orientés dans la direction du champ. La grandeur physique caractéristique de ce retour à l'équilibre est le temps de relaxation τ . Ce temps de relaxation est associé à une fréquence caractéristique f_R définie par :

$$f_R = \frac{1}{2\pi\tau} \quad (3.31)$$

Les phénomènes de relaxation dans les diélectriques sont provoqués principalement par l'oscillation des dipôles pour des fréquences comprises entre 10 MHz et 10 GHz traduisant la polarisation d'orientation ou dipolaire. La permittivité $\varepsilon'(\omega)$ chute autour de la fréquence caractéristique f_R mettant en exergue la perte de processus de polarisation lorsque la fréquence augmente. Il s'agit de la relaxation dipolaire de Pellat-Debye. Aux basses et très basses fréquences, des relaxations d'interfaces de type Maxwell-Wagner apparaissent. Il s'agit de relaxation de charges d'espace.

Les déplacements de charge engendrent des phénomènes de résonance. Une contre réaction provenant des forces de rappel proportionnelles à l'amplitude du déplacement freine ce déplacement. Dans les matériaux isolants, ces phénomènes de résonance sont provoqués par des ions ou des électrons soumis à un champ électrique de fréquence compris entre 10^{12} Hz et 10^{14} Hz. Cette résonance est associée aux polarisations électroniques ou atomiques. Elle est caractérisée par une chute brutale et un changement de signe de la partie réelle $\varepsilon'(\omega)$ de la permittivité autour de la fréquence de résonance f_R . En revanche, la partie imaginaire $\varepsilon''(\omega)$ présente un maximum (Figure 3).

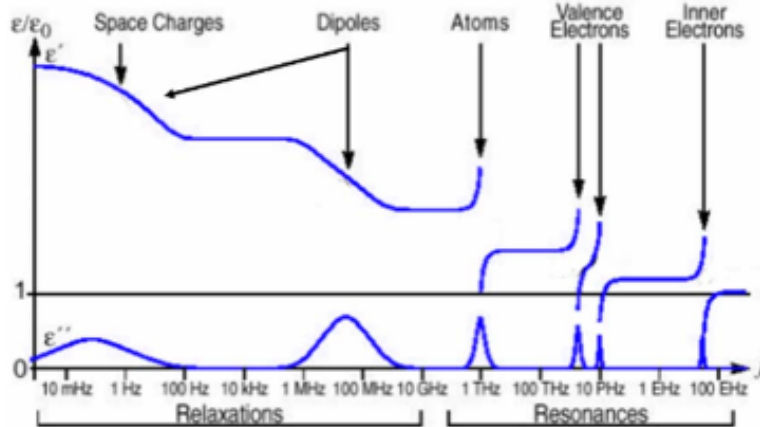


Figure 3 : Effets de la résonance et de la relaxation sur la permittivité [10]

Il est intéressant de noter qu'une variation de permittivité réelle provoque un pic sur les pertes diélectriques. En outre, les polarisations atomiques et électroniques sont des phénomènes de résonance alors que les polarisations dipolaires et de charge d'espace sont des phénomènes de relaxation.

La théorie d'impédance appliquée au tissu biologique n'inclut généralement pas les phénomènes de résonance. En effet, ces phénomènes ne se trouvent pas dans des échantillons de macro tissus dans des gammes de caractérisation allant du millihertz au gigahertz (Figure 3).

Plusieurs phénomènes de relaxation se produisent dans les milieux biologiques. Il s'agit, entre autres, des relaxations d'interface de type Maxwell-Wagner pour des basses et très basses fréquences, des relaxations dipolaires liées à l'orientation des molécules d'eau pour des fréquences comprises entre 10^7 Hz et 10^{10} Hz ou bien des relaxations de contre ions. La composante réelle de la permittivité $\varepsilon'(\omega)$ diminue progressivement lorsque la fréquence augmente sans pour autant s'annuler (Figure 3).

Le phénomène de dispersion est le concept physique correspondant à la relaxation dans le domaine fréquentiel. La permittivité diélectrique devient dépendante de la fréquence du champ électrique appliqué. Les dispersions simples sont caractérisées par une permittivité diélectrique avec deux niveaux de valeur différente indépendants en fréquence et une zone de transition autour de la fréquence caractéristique de relaxation. Ces différents niveaux peuvent être plus ou moins prononcés dans les biomatériaux.

Modèle de relaxation de Debye (1R-2C)

La relaxation de Debye est la réponse de relaxation diélectrique d'une population idéale de dipôles n'interagissant pas à un champ électrique alternatif externe.

Nous considérerons, dans la suite du paragraphe, que seules les charges électriques liées d'un matériau diélectrique sont placées entre les deux électrodes d'un condensateur. Un échelon de tension est appliqué au condensateur à $t = 0$. En outre, ce matériau ne présentera qu'un seul processus de relaxation avec une seule constante de temps caractéristique. La polarisation de

ce matériau augmente suivant une fonction exponentielle dépendante du temps. Cette réponse temporelle est donnée par l'expression suivante :

$$D(t) = D_{\infty} + (D_0 - D_{\infty}) \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}\right) \quad (3.32)$$

Le terme D_{∞} correspond à la densité surfacique de charge à $t = 0^+$. Les phénomènes de polarisation mis en jeu sont ceux des fréquences élevées (polarisation électronique).

La quantité D_0 est la densité de charge lorsque l'état d'équilibre est, de nouveau, établi. Le courant de charge est alors nul.

En outre, les quantités D_0 et D_{∞} sont respectivement la polarisation statique et instantanée. La grandeur τ est la constante de temps de relaxation.

La polarisation du matériau diélectrique du condensateur, en réponse à un échelon de champ électrique, est de la forme suivante :

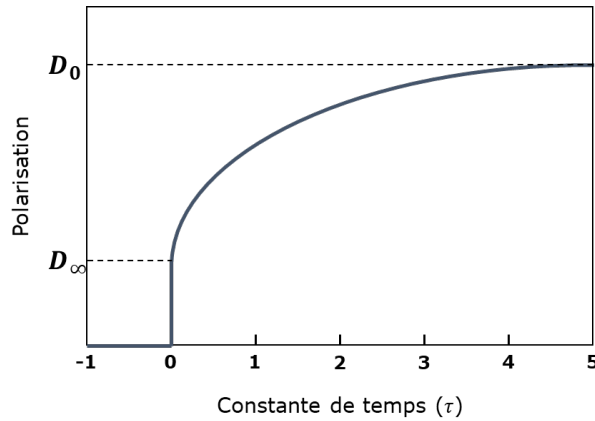


Figure 4 : Profil temporel de la polarisation du matériau diélectrique en réponse à un échelon de champ électrique

La réponse fréquentielle du milieu est donnée par transformée de Laplace suivant l'équation suivante :

$$\underline{\varepsilon}(\omega) = \varepsilon'_{\infty} + \frac{\varepsilon'_S - \varepsilon'_{\infty}}{(1 + j\omega\tau)} \quad (3.33)$$

Avec $C = \varepsilon \frac{A}{d}$, la relation (3.33) devient :

$$\underline{C}(\omega) = C_{\infty} + \frac{\Delta C}{(1 + j\omega\tau)} \quad (3.34)$$

Le circuit équivalent de Debye est le suivant :

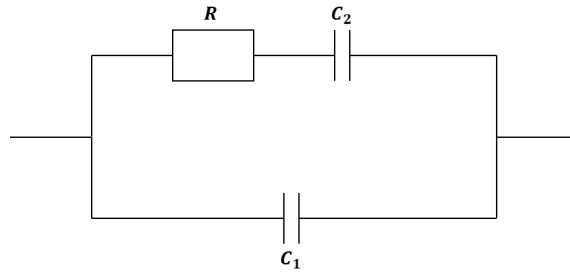


Figure 5 : Modèle électrique équivalent de Debye

Dans le modèle électrique de la Figure 5, l'admittance complexe est égale à :

$$\underline{Y}(\omega) = \frac{RC_2^2\omega}{1 + R^2C_2^2\omega^2} + j\omega C_1 + \frac{j\omega C_2}{1 + R^2C_2^2\omega^2} \quad (3.35)$$

En outre, en reprenant le formalisme du schéma électrique de la Figure 5, il est possible de déduire de la relation (3.33) :

$$\begin{cases} \tau = RC_2 \\ C_2 = \varepsilon_0(\varepsilon'_S - \varepsilon'_\infty) \\ C_1 = \varepsilon_0\varepsilon'_\infty \end{cases} \quad (3.36)$$

L'expression (3.35) peut être transformée dans le domaine des permittivité complexe en combinant les relations (3.36) et $\underline{\varepsilon}(\omega) = \frac{\underline{Y}(\omega)}{\varepsilon_0}$:

$$\underline{\varepsilon}(\omega) = \frac{\varepsilon'_S - \varepsilon'_\infty}{1 + \omega^2\tau^2} + \varepsilon'_\infty - j\frac{\omega\tau(\varepsilon'_S - \varepsilon'_\infty)}{1 + \omega^2\tau^2} \quad (3.37)$$

Les parties réelle et imaginaire de la relation précédente correspondent aux relations de dispersion de Debye. Ces dernières sont restées un modèle de base depuis son développement en 1929 par Debye. La Figure 6 représente la partie imaginaire en fonction de la partie réelle de la permittivité complexe (relation (3.37)).

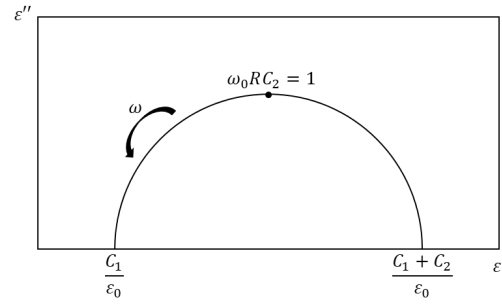


Figure 6 : Diagramme de Nyquist représentant la dépendance en fréquence de la permittivité complexe modélisé par le circuit de la Figure 5

Il est aussi possible de représenter les parties réelle et imaginaire de la permittivité complexe en fonction de la fréquence dans un diagramme de Bode et de Nyquist.

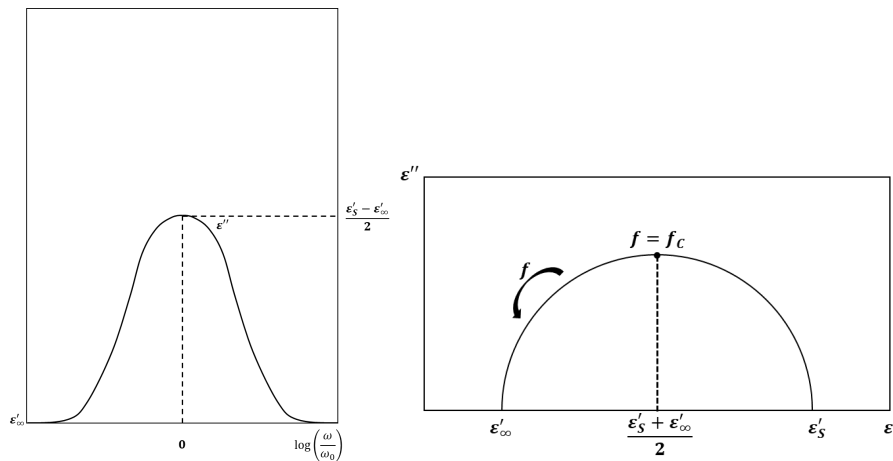


Figure 7 : Partie réelle ε' et partie imaginaire ε'' de la permittivité complexe de la relation (3.37) en fonction de la pulsation normalisée (figure de gauche). Diagramme de Nyquist de la partie imaginaire en fonction de la partie réelle de la permittivité diélectrique complexe (figure de droite)

Les deux graphes de la Figure 7 permettent d'identifier des éléments physiques caractéristiques de la dispersion :

- La fréquence caractéristique f_c ; A cette fréquence, le facteur de pertes diélectriques (partie imaginaire) est maximal et correspond au sommet du demi-cercle.
- Le rayon du demi-cercle de Nyquist représente le facteur de perte maximal $\Delta\varepsilon''$.
- La permittivité statique ε'_S et instantanée ε'_∞ sont les deux intersections du demi-cercle avec l'axe des abscisses.
- La chute de permittivité $\Delta\varepsilon'$ provoquée par la dispersion est traduite par le diamètre du demi-cercle.

Le maximum de la perte diélectrique ε'' correspondant à la partie réelle de l'admittance, est particulièrement utilisé dans la caractérisation de processus de relaxation notamment dans les liquides. Cependant, ce modèle très utilisé ne tient pas compte des phénomènes de conduction. Or nous savons que de tels phénomènes peuvent exister dans des matériaux diélectriques, comme le flux d'ions dans un champ électrique statique.

Reprenons l'expression (3.33) en tenant compte de la conductivité.

$$\underline{\varepsilon}(\omega) = \varepsilon'_\infty + \frac{\varepsilon'_S - \varepsilon'_\infty}{(1 + j\omega\tau)} - j \frac{\sigma}{\omega\varepsilon_0} \quad (3.38)$$

En termes de partie réelle et imaginaire on obtient :

$$\begin{cases} \varepsilon' = \varepsilon'_\infty + \frac{\varepsilon'_S - \varepsilon'_\infty}{1 + (\omega\tau)^2} \\ \varepsilon'' = \frac{\sigma}{\omega\varepsilon_0} + \frac{(\varepsilon'_S - \varepsilon'_\infty)\omega\tau}{1 + (\omega\tau)^2} \end{cases} \quad (3.39)$$

Ainsi, la conductivité globale σ_G est égale à :

$$\sigma_G = \omega\varepsilon_0\varepsilon'' = \sigma + \omega\varepsilon_0 \frac{\omega\tau(\varepsilon'_S - \varepsilon'_\infty)}{1 + \omega^2\tau^2} \quad (3.40)$$

La conductivité globale, d'après la relation (3.40), est donc la somme de la conductivité statique et des pertes par polarisation. Seule la conductivité globale du matériau peut être mesurée en pratique. Pour déterminer la conductivité statique, il faut réaliser une analyse de données ou avec des mesures pour une fréquence telle que $\omega\tau \ll 1$ rendant ainsi la contribution de la permittivité à la conductivité globale négligeable.

De plus, la variation de la permittivité et de la conductivité sont interdépendantes : à une chute de permittivité correspond une augmentation de la conductivité.

En outre, le circuit équivalent de la Figure 5 sert à analyser les données d'impédance. Les expériences de pertes diélectriques utilisent la température comme variable indépendante et les mesures sont réalisées à plusieurs fréquences fixes contrairement aux spectres d'impédance.

Les tissus biologiques présentent rarement un modèle de relaxation ne possédant qu'une seule constante de temps comme celui du formalisme de Debye. En effet, pour la plupart des systèmes biologiques, le centre du cercle du locus d'impédance se situe sous l'axe des abscisses dans le diagramme de Wessel. Les dispersions s'étendent sur une plus large gamme de fréquences. Dans les années 20, ces phénomènes étaient déjà observés et compris [11] pour une large gamme de matériaux [12]. En outre, Cole et Fricke ont publié des diagrammes et des équations reposant sur un angle de phase indépendant de la fréquence.

Afin d'expliquer cette tendance, de nombreuses tentatives d'explication ont été menées. Cependant, les mécanismes physiques entrant en jeu sont particulièrement complexes à

appréhender et donc à modéliser [13]. Des modèles de relaxation empiriques ont, donc, été développés permettant ainsi de traiter des données expérimentales sans expliquer formellement les phénomènes physiques sous-jacents. Cette approche « purement » mathématiques a engendré de nombreux débats [13]. Le modèle le plus utilisé pour sa simplicité est le modèle proposé par les frères Kenneth S. Cole et Robert H. Cole en 1941 [14] et 1942 [15]. L'équation de Cole-Cole est définie par :

$$\underline{\varepsilon}(\omega) = \varepsilon_{\infty} + \frac{\varepsilon'_S - \varepsilon'_{\infty}}{1 + (j\omega\tau_0)^{1-\alpha}} = \varepsilon' - j\varepsilon'' \quad (3.41)$$

Dans l'expression précédente, la quantité α est un paramètre de distribution et est compris entre 0 et 1. De plus, la grandeur $\alpha \frac{\pi}{2}$ est l'angle entre l'axe des réels et le segment reliant le centre du cercle et le point d'interception du cercle et de l'axe des réels pour les hautes fréquences. La principale différence avec le formalisme de Debye vient de la puissance appliquée au terme $j\omega\tau_0$. On retrouve, d'ailleurs, l'équation de Debye (voir (3.33)) pour $\alpha = 0$.

En utilisant la relation mathématique $j^{\alpha} = \cos\left(\alpha \frac{\pi}{2}\right) + j \sin\left(\alpha \frac{\pi}{2}\right)$, il est possible de calculer les parties réelle et imaginaire de la relation (3.41) :

$$\begin{cases} \varepsilon' = \varepsilon_{\infty} + \frac{(\varepsilon'_S - \varepsilon'_{\infty})[1 - (\omega\tau)^{1-\alpha} \sin\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)]}{1 + (\omega\tau)^{2(1-\alpha)} + 2(\omega\tau)^{1-\alpha} \sin\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)} \\ \varepsilon'' = \frac{(\varepsilon'_S - \varepsilon'_{\infty})(\omega\tau)^{1-\alpha} \cos\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)}{1 + 2(\omega\tau)^{1-\alpha} + 2(\omega\tau)^{1-\alpha} \sin\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)} \end{cases} \quad (3.42)$$

En éliminant $\omega\tau$ dans la relation précédente (3.42), les relations deviennent [13] :

$$\begin{aligned} \left(\varepsilon' - \frac{(\varepsilon'_S - \varepsilon'_{\infty})}{2}\right)^2 + \left(\varepsilon' + \frac{(\varepsilon'_S + \varepsilon'_{\infty})}{2} \cot\left(\frac{(1-\alpha)\pi}{2}\right)\right)^2 \\ = \left(\frac{\varepsilon'_S - \varepsilon'_{\infty}}{2} \operatorname{cosec}\left(\frac{(1-\alpha)\pi}{2}\right)\right)^2 \end{aligned} \quad (3.43)$$

Ainsi, le tracé de ε'' en fonction de ε' est un cercle dont le centre est sous l'axe des nombres réels.

Le modèle de Cole-Cole pourrait être vu comme une description de la relaxation de la permittivité complexe avec une distribution statistique de constantes de temps. La fonction de distribution dérivée des constantes de temps de relaxation est définie par :

$$G(\tau) = \frac{1}{2\pi\tau} \frac{\sin(\alpha\pi)}{\cosh(1-\alpha) \log\left(\frac{\tau}{\tau_0}\right) - \cos(\alpha\pi)} \quad (3.44)$$

Où τ_0 est la constante de temps du centre de la distribution de constantes de temps. Cette distribution s'élargit lorsque $\alpha \rightarrow 1$. Ceci se traduit, également, par une dispersion dans le domaine fréquentiel et donc par un aplatissement du demi-cercle dans le diagramme de Nyquist (Figure 8 et Figure 9).

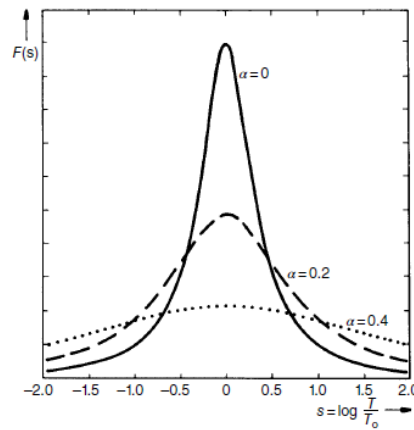


Figure 8 : Fonction de distribution $F(s)$ associée à la distribution de Cole-Cole des temps de relaxation pour différentes valeurs de α [16]

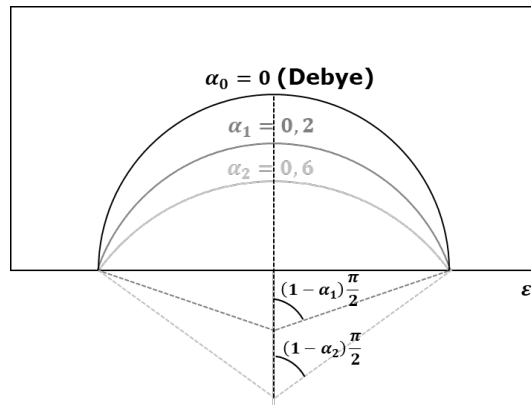


Figure 9 : Permittivité complexe associée avec l'expression de Cole-Cole

Pour les tissus biologiques, la grandeur α est généralement comprise entre 0,3 et 0,5. Finalement, il faut considérer le modèle Cole-Cole comme un modèle purement mathématiques servant à mettre en lumière, en « fittant », des résultats expérimentaux.

La réponse diélectrique théorisée par les frères Cole peut être représentée par le modèle électrique suivant :

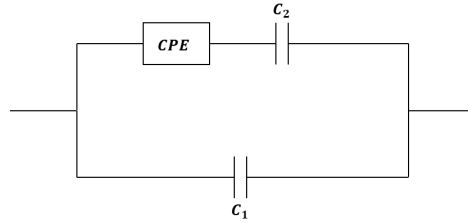


Figure 10 : Circuit électrique associé au modèle de Cole-Cole faisant écho au circuit de la Figure 5

La différence principale avec le circuit équivalent du modèle de Debye est l'introduction de l'élément à phase constante (CPE / *Constant Phase Element*). Il s'agit d'un élément d'impédance empirique du type :

$$\underline{Z_{CPE}}(\omega) = \frac{1}{Q} \frac{1}{(j\omega)^\alpha} \quad (3.45)$$

Pour $\alpha = 1$, l'élément à phase constante se comporte comme un condensateur ; pour $\alpha = 0$, il se comporte comme un élément résistif ; et enfin pour $\alpha = -1$ comme une inductance.

1.3. La corrélation entre les propriétés biologiques des tissus et la bioimpédance

L'étude des propriétés diélectriques des tissus biologiques apparut il y a plusieurs décennies [17] avec notamment l'analyse bibliographique exhaustive de Gabriel *et al.* [18] créant une base de données regroupant de nombreux tissus caractérisés sur une large bande de fréquence. En revanche, même si ces bases de données constituent une excellente ressource, elles manquent souvent de précisions. En effet, la caractérisation des propriétés diélectriques des tissus biologiques dépend de nombreux facteurs cruciaux tels que : l'origine des tissus (humains, animaux), si ces tissus sont caractérisés *in vivo* ou *ex-vivo*, le niveau d'hydratation, l'hétérogénéité naturel du tissu testé, la température, la technique de mesure employée, la taille de l'échantillon, la précision et l'incertitude de la mesure, la présence de pathologie ou encore l'âge de l'individu testé [19]. Ainsi, les recherches modernes se sont d'avantage concentrées sur la caractérisation des sources d'erreur dans la détermination des propriétés diélectriques des tissus [20].

Les cellules constituent la plus petite unité de base à l'origine des éléments constitutifs des êtres vivants. Il existe deux types de cellule : eucaryote et procaryote. Les premières possèdent un noyau alors que les autres non (bactérie, archée). Les cellules sont de différentes formes et tailles. La grande majorité des fonctions cellulaires sont assurées par les organites (Figure 11) situé dans le milieu intracellulaire. Une membrane protège ces éléments constitutifs, du milieu extracellulaire.

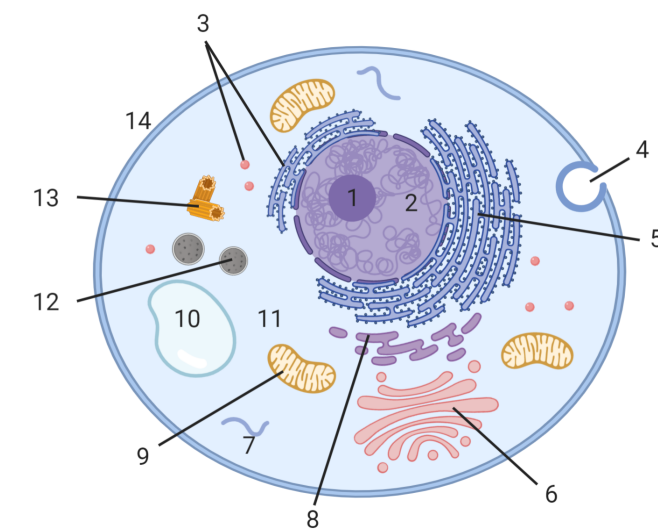


Figure 11 : Vue générale d'une cellule humaine avec les principaux organites : (1) Nucléole / (2) Noyau / (3) Ribosomes / (4) Vésicule / (5) Réticulum endoplasmique rugueux / (6) Appareil de Golgi / (7) Cytosquelette / (8) Réticulum endoplasmique lisse / (9) Mitochondries / (10) Vacuole / (11) Cytosol / (12) Lysosome / (13) Centrosome / (14) Membrane plasmique

Ces cellules sont, d'ailleurs, l'élément constitutif des tissus biologiques. Ces derniers se composent à 60% d'eau. 80% de cette eau se situe au niveau du cytoplasme des cellules [21]. Le reste se trouve dans le milieu extracellulaire. Dans cette eau, se trouvent de nombreuses espèces ioniques influençant les propriétés électriques des cellules. Les tissus biologiques présentent donc une forte composante électrolytique.

Les milieux intra- et extracellulaire sont séparés par la membrane cellulaire. Cette membrane induit un comportement capacitif aux tissus biologiques, et est presque infranchissable pour les espèces ioniques présentes.

Le cytoplasme

Le cytoplasme contient tout le matériel cellulaire situé entre le noyau et la membrane plasmique. Ce compartiment possède deux composantes : les organelles et le cytosol. Ce dernier, partie fluide du cytoplasme, est principalement constitué d'eau à hauteur de 80-85 %, de divers solutés dissous et des particules en suspension. Les autres constituants du cytoplasme sont des protéines (10-15 %), des lipides (2-4 %), des polysaccharides (1 %) et des acides nucléiques (1 %). Dans le cytosol, il existe différents types d'organelles (petits organes) avec chacun une forme et une fonction comme illustré dans la Figure 11.

Tous ces éléments ont des structures membranaires hétérogènes affectant les propriétés diélectriques. Le cytoplasme est confiné à l'extérieur par la membrane plasmique qui est une bicouche lipidique, et, à l'intérieur, par la membrane nucléaire [22]. La permittivité relative du cytoplasme est comprise entre 35 et 60 [23]. Il peut être considéré comme un électrolyte.

Sverre Grimnes et Ørjan G. Martinsen [11] ont regroupé les ions majoritaires présents dans le cytoplasme (Tableau 1).

Tableau 1

Anions		Cations	
Concentration (meq/L)		Concentration (meq/L)	
Na^+	10	Cl^-	4
K^+	140	HCO_3^-	10
Ca^{2+}	10^{-4}	$Protein^-$	36
Mg^{2+}	30	$HPO_4^- + SO_4^-$ + acides organiques	130
H^+ (pH = 7,4)	4×10^{-5}		

Milieu extracellulaire

Le fluide extracellulaire est le milieu permettant aux cellules l'échange de substances indispensable à leur fonctionnement. Ces substances regroupent les gaz dissous, les nutriments, et les électrolytes [24]. Les ions contribuant le plus à la conductivité de ce milieu extracellulaire sont les ions Na^+ et Cl^- . Les concentrations des électrolytes dans le milieu extracellulaire sont données dans le Tableau 2 [11].

Tableau 2

Anions		Cations	
Concentration (meq/L)		Concentration (meq/L)	
Na^+	142	Cl^-	103
K^+	4	HCO_3^-	24
Ca^{2+}	5	$Protein^-$	16
Mg^{2+}	2	$HPO_4^- + SO_4^-$ + acides organiques	10
H^+ (pH = 7,4)	4×10^{-5}		

Les protéines du plasma sont chargées négativement et peuvent donc être considérées comme des ions contribuant à la conductivité du milieu extracellulaire.

Membrane cellulaire

La membrane plasmique constitue une barrière fine, souple mais robuste délimitant le cytoplasme du milieu extracellulaire. Elle est généralement décrite, structurellement, par un modèle de type *mosaïque fluide* [24]. L'agencement moléculaire de la membrane plasmique se rapproche d'une « soupe » de lipides continuellement en mouvement contenant différents types de protéines (Figure 12).

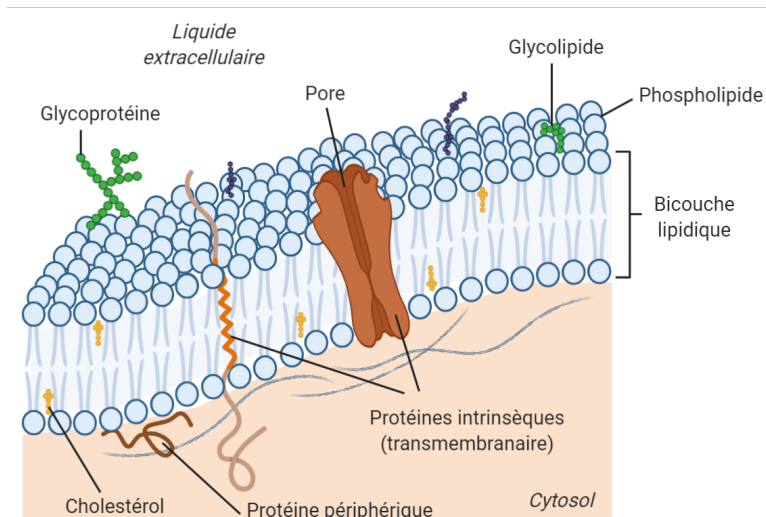


Figure 12 : Disposition en mosaïque fluide des lipides et des protéines de la membrane plasmique (Figure reproduite à partir du livre Principles of anatomy and physiology Chapter 3 The plasma membrane Page 62)

Quelques protéines flottent librement dans le liquide lipidique tandis que d'autres sont fixes à des localisations spécifiques. La membrane cellulaire est d'une importance extrême au maintien de la vie. En effet, elle assure, non seulement, un rôle protecteur pour la cellule mais permet aussi un échange entre le milieu extra- et intracellulaire. La cellule peut contrôler sa perméabilité grâce aux différents lipides permettant le passage de molécules liposolubles tout en empêchant l'entrée ou la sortie de substances polaires ou chargées. Les protéines de la membrane cellulaire rendent possible le mouvement des ions et des molécules polaires à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule. Les autres protéines agissent comme des récepteurs ou comme des liens entre la membrane plasmique et des protéines extracellulaires ou intracellulaires.

Structurellement, cette membrane cellulaire est une bicouche lipidique dos à dos. Cette dernière est composée de trois types de molécules lipidiques : cholestérols (environ 20 %), phospholipides (environ 75 %) et glycolipides (environ 5 %).

Cet arrangement se produit car les lipides sont des molécules amphipathiques signifiant que ces dernières possèdent, à la fois, un groupe hydrophobe et hydrophile. Les phospholipides possèdent une « tête » qui est polaire car contenant du phosphate, composé hydrophile. Les parties polaires sont les deux longues « tiges » d'acide gras, chaînes d'hydrocarbures hydrophobes.

Dans cette bicouche lipidique, les molécules phospholipidiques s'orientent avec leurs têtes hydrophiles tournées vers l'extérieur. Ainsi, les têtes font face à un liquide aqueux de chaque côté : le cytosol à l'intérieur et le liquide extracellulaire à l'extérieur.

D'un point de vue électrique, cette membrane plasmique est particulièrement isolante par sa composition comme nous venons de l'évoquer précédemment. Elle sépare deux milieux particulièrement conducteurs : les milieux intra et extra cellulaires. On reconnaît là la

configuration classique d'une capacité. La capacité totale de la membrane notée c_m de la cellule est une quantité directement proportionnelle à l'aire A de la membrane et des propriétés diélectriques de la membrane, en supposant que l'épaisseur de la membrane soit constante. Ainsi, la capacité totale c_m de la membrane est égale à $c_m = C_m A$ où C_m est la capacité spécifique de la membrane, exprimé généralement en $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ et A désigne l'aire de la membrane.

La valeur la plus utilisée est de $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ [25]. Cette valeur a été déterminée pendant une série d'expériences de Hodgkin, Huxley, et Katz publié en 1952.

Surface de la cellule

La surface de la cellule est le premier point en contact avec l'environnement. Cette surface peut être particulièrement complexe que ceux soient pour les bactéries, les protéines S ou encore les cellules animales ou végétales [26]. La couche superficielle est chargée négativement pour la grande majorité des cellules en raison de la prédominance de groupes chargés négativement comme les phosphates ou les carboxylates. Ainsi, les ions positifs sont attirés du milieu vers la surface pour former une double couche [27].

Bio-impédance électrique

Ces mesures peuvent être utilisées dans différents types d'application comme l'analyse de la composition du corps humain, une estimation de l'hydratation de la peau ou encore dans le suivi de cicatrisation de plaie.

En effet, un certain nombre d'articles ont mesuré et modélisé les changements des propriétés électriques des cellules à la fois au cours de manipulations *in vivo* et *in vitro*. Une corrélation a aussi été démontrée entre le type de cellule et les propriétés électriques. D'un point de vue électrique, une cellule peut être représentée par un noyau conducteur riche en ions (cytoplasme) noyé dans un milieu conducteur riche en ions (fluide extracellulaire), séparé par une barrière non conductrice (membrane cellulaire). Cette dernière se comporte donc comme un milieu électrochimique laissant passer ou non certains ions. Son comportement se rapproche donc d'un condensateur « avec des fuites ». Le noyau et le milieu extracellulaire, quant à eux, se comportent comme un électrolyte et donc, d'un point de vue électrique, comme une résistance.

Modèle électrique à trois éléments

Il est ainsi possible de modéliser les propriétés électriques d'une cellule comme un réseau de deux résistances, R_{ext} et R_{in} , et d'une capacité C_{me} . Les résistances R_{ext} et R_{in} représentent respectivement la résistance du milieu extracellulaire et intracellulaire (Figure 13).

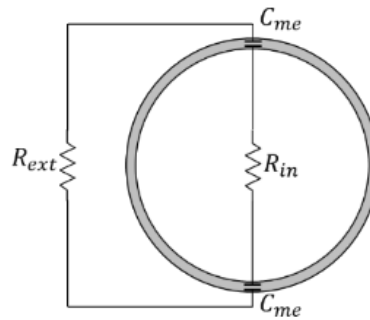


Figure 13 : Modèle électrique d'une cellule. La résistance R_{in} correspond à la résistance du milieu intracellulaire, C_{me} représente la capacité de la membrane cellulaire et enfin R_{ext} est la résistance du milieu extracellulaire.

Aux faibles fréquences, le condensateur C_{me} se comporte comme un circuit ouvert. Tout le courant passera, donc, par la résistance R_{ext} . Aux fréquences élevées, le condensateur C_{me} agit comme un court-circuit. Tout le courant passera, donc, à la fois, par les résistances R_{in} et R_{ext} avec une résistance équivalente, notée R_{∞} , égale à $\frac{R_{ext}R_{int}}{R_{ext}+R_{int}}$. Ainsi, un courant sinusoïdal de fréquence faible appliqué à un tissu traversera seulement le milieu extracellulaire. En effet, les propriétés capacitives de la membrane cellulaire empêchent ce courant de circuler dans les cellules. En revanche, un courant sinusoïdal avec une fréquence élevée circulera à travers, à la fois, le milieu extracellulaire et la cellule (Figure 14).

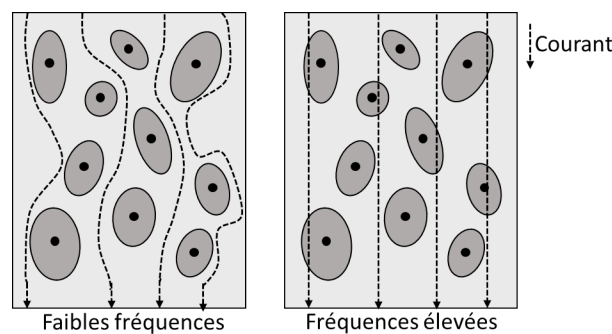


Figure 14 : Chemins empruntés par le courant dans un matériau biologique. Les courants ayant une fréquence faible circulent dans le milieu extracellulaire (à gauche) tandis que ceux, possédant une fréquence élevée, peuvent pénétrer la membrane cellulaire et ainsi passer dans la cellule (à droite).

Un exemple de diagramme de Bode est donné à la figure suivante.

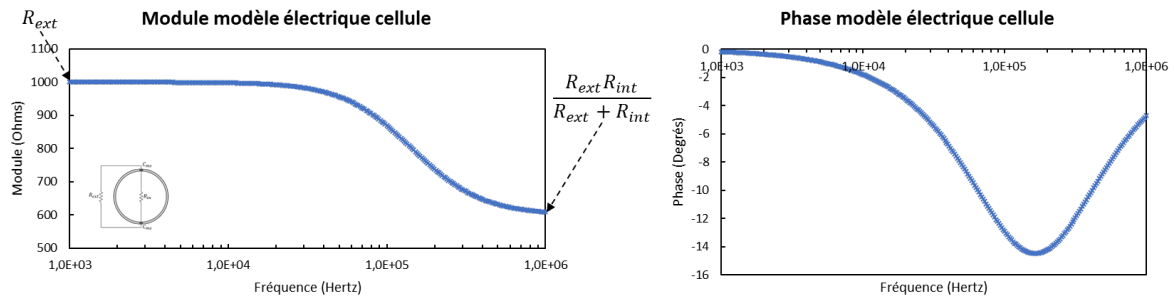


Figure 15 : Exemple de diagramme de Bode du modèle électrique d'une cellule avec $R_{ext} = 1 \text{ k}\Omega$, $R_{int} = 1,5 \text{ k}\Omega$, et $C_{int} = 1 \text{ nF}$

Dans le diagramme de Bode de la figure précédente, pour les fréquences inférieures à 10 kHz, l'impédance correspond à la résistance du milieu extracellulaire R_{ext} et pour les fréquences supérieures à 100 kHz, l'impédance dépend des résistances du milieu intracellulaire et extracellulaire respectivement R_{int} et R_{ext} . Enfin, pour des fréquences comprises entre 10 kHz et 100 kHz, les trois termes du modèle électrique R_{int} , R_{ext} et C_{me} interviennent dans l'impédance électrique.

2. La spectroscopie d'impédance : généralités et mise en pratique

2.1. Stratégie adoptée

Comme nous l'avons évoqué dans les parties précédentes, la bioimpédance a été particulièrement utilisée au cours de ces 50 dernières années pour caractériser les tissus biologiques et les fluides biologiques aussi bien dans les milieux extracellulaires qu'intracellulaires [28]. Ainsi, tout changement structurelle au niveau cellulaire se traduira par une variation d'impédance. Une force de pression appliquée continuellement sur les tissus déforment durablement les cellules endommageant durablement le cytosquelette, échafaudage complexe soutenant la structure cellulaire.

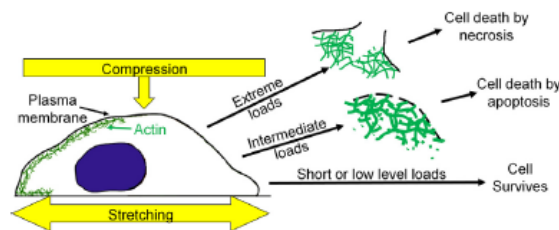


Figure 16 : Réponses possibles des cellules au stress mécanique de compression ou d'étirement [29]

Les dommages provoqués par les charges mécaniques aux cellules vivantes induisant des effets divers sur leur viabilité peuvent être catégorisées de la manière suivante [29] (Figure 16) :

- Charge mécanique faible : il s'agit d'une charge au niveau physiologique. Les cellules tolèrent assez bien ces charges d'une telle intensité durant leur durée de vie. Elles pourront continuer à remplir leurs fonctions même sous charge mécanique. On peut citer, par exemple, les cellules de la peau et les tissus sous-cutanés qui conservent leur intégrité pendant des jours au contact des capteurs des montres connectées.
- Charge mécanique intermédiaire : il s'agit éventuellement de charge mécanique, au niveau physiologique, mais maintenue pendant une longue période sans aucun soulagement. Les cellules ne connaissent pas une défaillance immédiate mais ont une durée de vie moindre. Le cytosquelette ainsi que la membrane plasmique voient leur intégrité et leur dynamique dégradées entraînant une mort lente et progressive des cellules. Cependant, si ce stress mécanique est supprimé à temps, ce mécanisme de dégradation peut être enrayé.
- Charge mécanique élevée : il s'agit d'un stress mécanique supérieur à un stress physiologique. Les cellules se rompent car écrasées, déchirées ou broyées perturbant, de manière irréversible, leur intégrité structurelle et leurs fonctions biologiques. Ce type de dommages cellulaires peut survenir à la suite d'accidents de voiture ou d'ulcères de pression provoquant des dommages compressifs respectivement immédiats et étalés dans le temps.

Ces différentes déformations engendrent une perte d'intégrité aux murs cellulaires extérieurs ou aux membranes plasmiques soutenues structurellement par le cytosquelette. Ces pertes d'intégrité entraînent une perméabilisation de la membrane cellulaire, des phénomènes de transport anormaux et finalement la perte de l'homéostasie cellulaire et donc leur apoptose [30].

Toutes ces perturbations cellulaires devraient pouvoir être détectées par changement dans le spectre d'impédance. Comme décrit précédemment, les dommages ou les morts cellulaires se traduisent par une perte d'intégrité et de structure de la membrane plasmique provoquant, non seulement, une libération d'ions dans le milieu extracellulaire mais aussi de courant de passer au travers de la membrane. Ainsi, la membrane étant une capacité comme présenté dans la partie précédente, les tissus endommagés présenteront une conductivité plus importante ; ces tissus auront un comportement moins capacitif mais plus résistif. Ceci se traduit par un angle de phase pour l'impédance plus proche de zéro ou par une réactance qui diminue.

La spectroscopie d'impédance est donc particulièrement indiquée pour la détection de l'escarre de pression et dans le suivi de cicatrisation de cette plaie.

Des tests *in vitro* sur peau d'oreille de cochon ont été, d'abord, menés afin de valider la configuration utilisée pour réaliser les mesures d'impédance ainsi que la conception des électrodes flexibles. Ces oreilles de cochon ne sont pas échaudées et sont conservées à -18 °C pour préserver les tissus.

Les modèles d'escarre de pression nécessitent des tissus vivants afin d'être pertinents. Des tests ont donc été, ensuite, réalisés sur des tissus murins avec la configuration précédemment développée. Ces manipulations ont été effectuées en partenariat avec le laboratoire Hypoxie et Physiopathologies cardiovasculaires et respiratoires de l'INSERM. Les tissus murins sont particulièrement pertinents à la réalisation d'escarres de pression [31] [32].

2.2. Mesure d'impédance et instrumentation

Toutes les méthodes pour mesurer l'impédance nécessitent l'emploi d'électrodes. Elles servent notamment à injecter le courant servant à exciter les tissus caractérisés. La plupart des systèmes de spectroscopie d'impédance injecte un courant constant dans les tissus et mesure la tension qui en résulte. Cette tension peut être mesurée en utilisant les mêmes électrodes ou en utilisant une deuxième paire d'électrodes. On parle, respectivement, de configuration bipolaire et tétrapolaire.

La technique bipolaire

Cette technique consiste à injecter un courant ou une tension dans le tissu à caractériser et à mesurer, respectivement, une tension ou un courant tout en se servant du même couple d'électrodes. Le principal problème de cette technique est la résistance de contact entre la peau et le pôle de l'électrode qui est inconnue et qui peut varier au cours de la mesure.

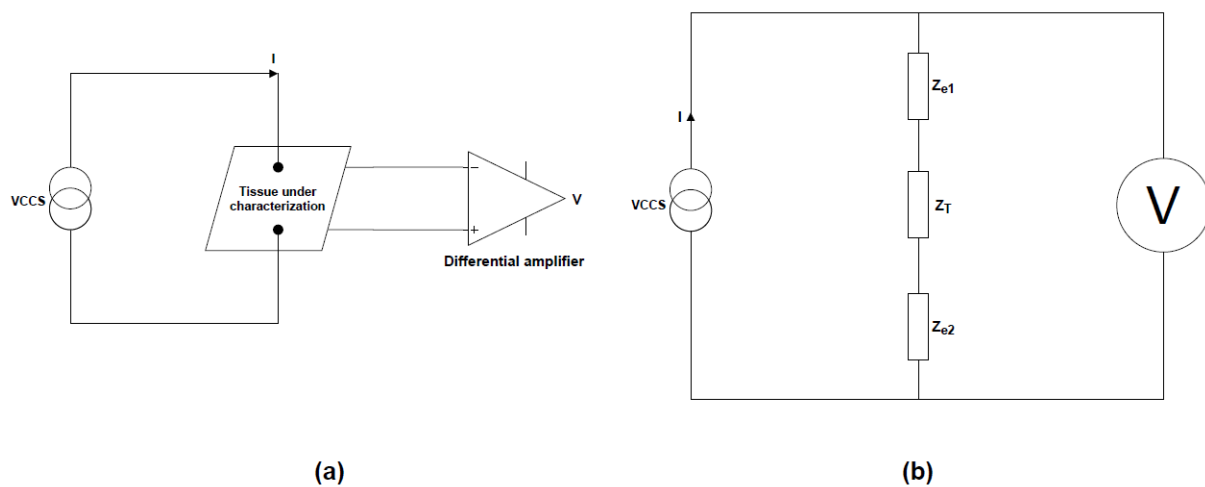


Figure 17 : Technique bipolaire avec injection de courant constant pour mesurer l'impédance avec I le courant d'excitation et V la tension différentielle mesurée (a). A droite (b), circuit équivalent d'une mesure avec 2 électrodes avec Z_T l'impédance du tissu, et Z_{e1} et Z_{e2} l'impédance des 2 électrodes.

La Figure 17 présente le concept de la mesure bipolaire qui s'organise autour d'une source de courant contrôlée en tension (VCCS = *Voltage Controlled Current Source*) générant un courant constant et d'un amplificateur différentiel qui mesure la tension résultante entre les électrodes.

La technique tétrapolaire

Cette technique repose sur l'utilisation de deux paires d'électrodes. Une première paire placée à l'extérieur permet d'injecter un courant constant tandis que la différence de potentielle résultante est mesurée via la deuxième paire d'électrodes située à l'intérieur. Cette configuration fut, pour la première fois, mis en place par Bouty en 1884 [33].

Cette configuration de mesure offre une impédance d'entrée importante et permet d'éviter les effets de charge afin d'obtenir une mesure efficace de la tension. Tout ceci permet d'éviter l'impact de la résistance de contact sur la précision de la mesure d'impédance et d'aider à la caractérisation de tissus profonds. Certains artefacts de mouvement, la température de la peau ou encore l'hydratation n'affectent pas la mesure d'impédance avec cette configuration [34].

Si les électrodes de courant sont situées suffisamment loin des électrodes de détection de la tension générée alors elles détectent ce signal, dans une région, où la distribution de courant est plus uniforme. Cependant, si la paire d'électrodes internes se trouvent trop proches de celles externes alors la distribution de courant sera moins uniforme car la densité de courant est plus élevée à proximité des électrodes externes.

La configuration d'électrodes tétrapolaire est présentée à la figure suivante :

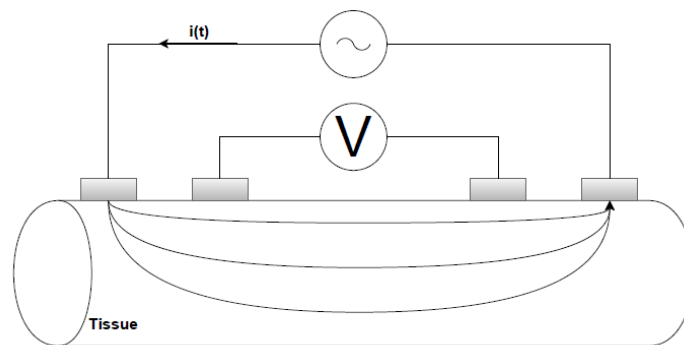


Figure 18 : Technique tétrapolaire de caractérisation avec la distribution non-uniforme des lignes de courant provenant des pôles des électrodes.

La plupart des systèmes servant à l'analyse des propriétés électriques des tissus s'articulent autour d'une source de courant multifréquentielle. Le principal défi technologique d'un tel système est de devoir maintenir, précisément, une consigne en courant sur une large gamme de fréquences. Ces dernières peuvent être générées en se servant d'un oscillateur ou numériquement avec un convertisseur numérique-analogique (DAC) [35]. Une source de courant contrôlée en tension (VCCS) permet de transformer le signal oscillant en courant utilisable pour l'injection dans les milieux biologiques [36]. La grande majorité des systèmes de spectroscopie d'impédance utilise un pulse ou des ondes sinusoïdales comme tension dans le système de commande.

Dans la littérature, comme évoqué dans la partie précédente, cinq méthodes sont principalement utilisées pour mesurer l'impédance des tissus sur une large gamme de fréquences :

- Changer la fréquence du courant d'excitation et mesurer la tension résultante [37]
- Injecter un courant ou une tension de type chirp [38]
- Appliquer un courant avec une composante contenant une somme de plusieurs ondes sinusoïdales [39]
- Appliquer une impulsion contenant une énergie spectrale large grâce à une source de courant [40]
- Injecter un signaux binaires multi fréquentielles de courant ou de tension [6]

La tension sinusoïdale est générée numériquement puis convertie en courant. Généralement, la tension différentielle est mesurée entre les électrodes. Il est, aussi, possible d'employer un circuit de contrôle de type multiplexeur pour pouvoir sélectionner les bonnes électrodes. L'électronique peut aussi nécessiter l'emploi de filtres passe-bas, de démodulateur. Tout ceci peut être orchestré par un micro-processeur. Les données d'impédance peuvent être stockées dans de la mémoire flash par exemple pour être, par la suite, traitées sur ordinateur pour réaliser une étude statistique, par exemple.

Au cours des années, de nombreux systèmes de mesure de bioimpédance ont été proposés et analysés notamment sur leurs performances à hautes fréquences [41].

Le développement électronique des sources de courant adaptées à la mesure de bioimpédance sont décrites en Annexe B.

Analyseurs d'impédance et LCR mètres

La mesure d'impédance est conditionnée par plusieurs paramètres : fréquence de mesure, gammes de mesure, vitesse, précision ou encore le nombre de points par balayage. En outre, la configuration de la mesure est, elle aussi, importante ; par exemple, la mesure doit-elle être effectuée en configuration 2, 3 ou 4 pointes ? Il faut également prêter attention aux caractéristiques techniques des instruments de mesure.

Les analyseurs d'impédance sont particulièrement adaptés pour réaliser de la spectroscopie d'impédance à haute résolution. Plusieurs fabricants développent des analyseurs d'impédance haute précision comme Agilent ou Solartron Analytical. Plusieurs analyseurs sont très utilisés dans la littérature : l'Agilent 4294A ou encore le Solartron 1260A.

Ce dernier a fait ses preuves en électrochimie ou dans les tests de matériaux. Les gammes de mesure pour les résistances, les capacités et les inductances sont respectivement de 10 $m\Omega$ à 100 $M\Omega$, de 1 pF à 10 mF et enfin de 100 nH à 1000 H. Il est capable de mesurer une impédance allant de 10 Ω à 100 $k\Omega$ avec une précision de 0,1 % et 0,1 ° sur une plage de fréquences comprise entre 10 μ Hz et 100 kHz. Cette précision passe ensuite à 0,2 % et 0,2 ° entre 100 kHz et 1 MHz puis à 1 % et 1 ° entre 1 MHz et 10 MHz puis enfin à 10 % et 10 ° jusque 32 MHz.

Cet analyseur d'impédance possède deux ports différentiels pour la mesure de tension et un port de mesure de courant permettant de réaliser de vraies mesures 2,3 ou 4 pointes. Les tensions de polarisation peuvent atteindre $\pm 40,95$ V. La conception interne de cet instrument de mesure

repose sur une corrélation à onde sinusoïdale simple similaire à une détection synchrone digitale échantillonnant les signaux avec des CAN de 16 bits. Cet analyseur de réponse en fréquence est composé d'un générateur d'ondes sinusoïdales permettant d'exciter le dispositif à caractériser avec une sinusoïde d'amplitude et de fréquence programmable. Ensuite, un ou plusieurs analyseurs, chacun mettant en corrélation la forme d'onde d'entrée afin d'obtenir phase et module du signal analysé.

Généralement, un premier analyseur mesure la tension entre deux références du dispositif testé tandis qu'un second analyseur mesure une onde proportionnelle au courant traversant à travers l'élément caractérisé. Il est, également, possible de n'utiliser qu'un seul analyseur est de le multiplexer pour qu'il puisse réaliser ces deux tâches. La Figure 19 présente un schéma d'un analyseur de réponse en fréquence de Solartron.

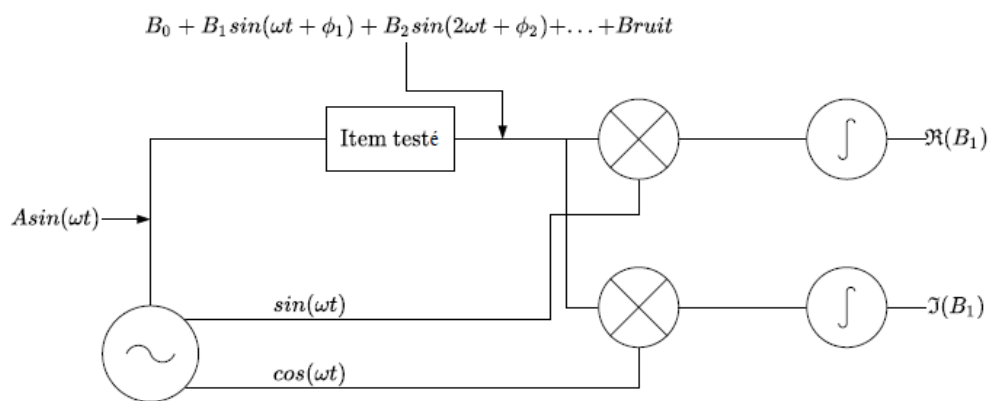


Figure 19 : Schéma d'un analyseur de réponse en fréquence de Solartron

La réponse produite après passage dans l'échantillon testé se caractérise par une composante continue (B_0 dans la Figure 19), des composantes de distorsion harmonique ($B_2, B_3, B_4, \dots$) et de bruit généré par l'échantillon. La composante de ce signal qui doit être analysée est B_1 . En effet, cette dernière a la même fréquence que le signal d'excitation. Toutes les autres composantes parasitant le signal de réponse doivent être rejetées afin de réaliser une mesure précise de la composante fondamentale du signal à cette même fréquence. Multiplication par l'onde de référence et intégration sont utilisées pour filtrer ces signaux indésirables et réaliser, ainsi, une corrélation.

Le résultat de cette corrélation se compose de deux composantes : l'une en phase correspondant à la partie réelle et l'autre en quadrature égale à la partie imaginaire. En réalisant de simples opérations mathématiques, il est alors possible de calculer le module et la phase du signal mesuré.

Pour la gamme de fréquence la plus élevée entre 65,5 kHz et 32 MHz, une boucle à verrouillage de phase PLL permet de générer l'onde d'excitation haute fréquence ou encore un signal de référence interne qui possède une fréquence légèrement différente de celle d'excitation.

L'onde d'entrée est mélangée à cette onde de référence par hétérodyne afin d'obtenir deux signaux : un à une fréquence correspondant à la somme des deux précédents et l'autre à leur différence. Le premier des deux signaux est filtré laissant l'onde avec la fréquence la plus faible. Un convertisseur analogique numérique permet ensuite de l'analyser.

Les mesures dans la gamme de fréquences intermédiaires entre 300 Hz et 65,5 kHz reposent sur la méthode hétérodyne digitale pour mélanger les signaux d'entrée. Pour les fréquences inférieures à 300 Hz, elles sont réalisées directement via un convertisseur analogique numérique.

Cette technique bien que précise est relativement lente, chaque mesure prenant 10 ms. Solartron, pour compenser cela, propose la possibilité de recourir à la transformée de Fourier rapide afin d'accélérer le temps de mesure au prix d'une précision moindre.

Afin d'améliorer la précision des mesures 4 pointes, Solartron a développé une interface référencée 1294. Il s'agit d'un préamplificateur et peut être associé au 1260A par exemple. Il possède un générateur équilibré, est blindé. Les entrées sensibles à la tension sont à haute impédance afin de réduire les courants parasites à la terre. Toutes ces caractéristiques permettent de maximiser la précision pour les mesures 4 pointes dans des conditions difficiles. En plus, cette interface a été conçue pour être conforme à la norme IEC-60601 permettant de la connecter à des sujets vivants. Le 1294 peut bien sûr être utilisé en configuration à 2-, 3- ou 4 électrodes.

2.3. Fabrication et test d'électrodes conformables adaptées à la caractérisation de tissus vivants

Procédé de fabrication

Pour les mesures de bioimpédance sur tissus humains, la configuration classique peau-électrode consiste en une électrode métallique recouverte d'un gel électrolytique. Le tout est ensuite maintenu en contact avec la peau à l'aide d'un pansement (Figure 20).

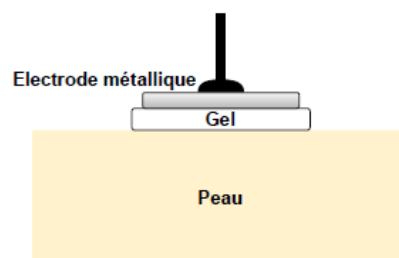


Figure 20 : Configuration classique de mesure de bioimpédance

Le type d'électrode le plus communément utilisé est l'électrode Ag/AgCl avec un électrolyte composé d'ions Cl^- [42].

En outre, ces électrodes doivent aussi être confortables pour le patient. Ces électrodes métalliques sont généralement déposées sur un substrat flexible plastique de type poly(téréphtalate d'éthylène) (PET) ou polyuréthane (PU). Ces dernières années, les électrodes textiles ont d'ailleurs largement été développées et utilisées dans le milieu médical offrant plus de confort et évitant certains désagréments des électrodes à gel traditionnelles comme l'irritation de la peau ou encore la dégradation de la qualité du signal au cours du temps [43].

Dans les tissus, les porteurs de charge sont les ions libres chargés positivement ou négativement. L'électrode permet le changement de porteurs de charge. En effet, lorsqu'un métal dont les porteurs de charge sont des électrons entre en contact avec un électrolyte dont les porteurs de charge sont des ions, une double couche se forme à la surface du métal dans l'électrolyte [44]. La conversion ion-électron et inversement a lieu à cet endroit.

Divers métaux, au sens conducteur avec comme porteurs de charge dominants les électrodes, sont utilisés pour fabriquer des électrodes. Le carbone entre, également, dans cette définition.

La résistance mécanique des métaux utilisés est souvent un paramètre important, par exemple pour la tige d'une électrode à aiguille. De plus, la biocompatibilité peut être critique si le métal doit entrer en contact avec des tissus vivants (les métaux utilisés pour des électrodes stériles invasives). En effet, le nickel peut générer des réactions allergiques sur la peau humaine. Il est possible de prévenir cet effet en utilisant un pont salin électrolytique entre le métal des électrodes et le tissu.

Les métaux principaux qui entrent en jeu dans la fabrication des électrodes ainsi que leurs propriétés et leurs utilisations sont regroupés dans le Tableau 3.

Tableau 3

Métal	Propriétés	Utilisations
Ag/AgCl	Faible polarisation, référence stable, non biocompatible	Electromyogramme, électrocardiogramme
Platine	Non corrosif, biocompatible, polarisable	Aiguilles, implants
Or	Non corrosif, moins biocompatible que l'or	Aiguilles, électrodes
Titane	Hautement biocompatible	Implants
Inox	Solide mécaniquement, non corrosif, très polarisable et bruyé, très dépendant de l'alliage	Aiguilles
Etain	Faible bruit, souple et malléable	Electroencéphalogramme
Nickel	Fines plaques flexibles, réactions allergiques	Surface de la peau
Argent, zinc, fer, aluminium	Propriétés pharmaceutiques et bactéricides	Thérapie courant continu et iontophorèse
Carbone	Plaques, fils souples et flexibles multi usage	Electrocardiogramme, électromyogramme
Polymères	Peuvent se trouver disponible sous forme d'ions. Peuvent également faire partie de l'électrolyte de contact	Surface de la peau

Les électrodes sont fabriquées par sérigraphie comme décrit dans le Chapitre 2 Partie 2.1 Procédé de fabrication. Le substrat utilisé est du poly(téréphtalate d'éthylène) (PET) d'une épaisseur de 75 μm . Elles se composent de trois couches de matériaux imprimés (Figure 21) :

- Première couche d'encre conductrice Ag/AgCl
 - Température de recuit = 110°C
 - Temps de recuit = 10 minutes
- Seconde couche d'encre conductrice carbone C
 - Température de recuit = 110°C
 - Temps de recuit = 5 minutes
- Troisième couche d'encre diélectrique

Les recuits sont effectués par air chaud. Ces derniers permettent d'évaporer les solvants

La couche d'encre de matériau diélectrique est déposée sélectivement. Il s'agit de couvrir uniquement les pistes entre les pôles de mesure et les pads de connexion afin d'éviter les court-circuit pendant les mesures.

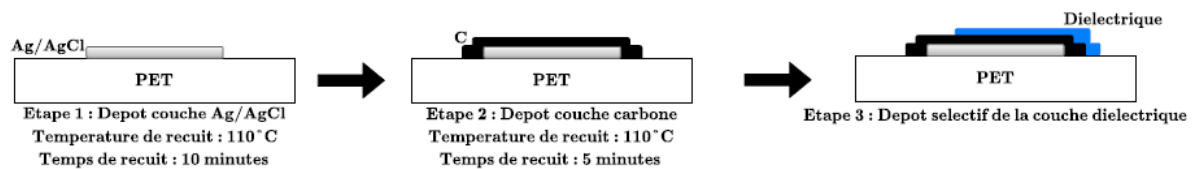


Figure 21 : Procédé de fabrication des électrodes flexibles

L'encre Ag/AgCl est la CI-4001 du fournisseur Engineered Materials Systems, Inc. Le ratio Ag/AgCl est de 45 :55. Ce dernier est typiquement utilisé pour les électrodes d'iontophorèse. La résistance électrique typique est de 0,500 Ω/sq à 25,4 μm .

L'encre carbone est la CI-2001 du même fournisseur Engineered Materials Systems Inc. Cette encre est usuellement imprimée sur une couche d'encre argent comme couche protectrice. La résistance électrique de la CI-2001 est de 20 Ω/sq à 25,4 μm .

L'encre diélectrique est l'UV-2560 de Applied Ink Solutions. Cette encre peut être recuite par UV.

Les électrodes sont composées de deux pôles de forme quasi hémisphérique d'une surface d'environ 1,3 cm^2 (Figure 22).

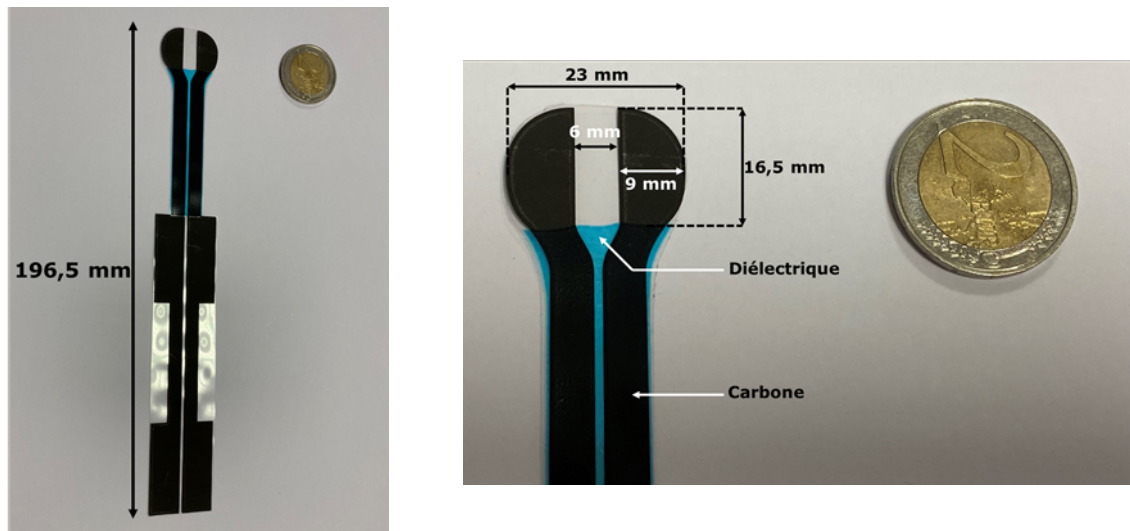


Figure 22 : Électrodes flexibles utilisées pour la caractérisation par spectroscopie d'impédance. Elles sont constituées de trois couches de matériaux.

Ces électrodes ont été testées sur peau d'oreille de cochon. En outre, ces tests *in vivo* ont permis une première analyse des données de bioimpédance notamment avec la mise en place d'un modèle de fit.

Les oreilles de cochon sont prélevées dans un abattoir. Elles ne sont pas échaudées permettant de préserver l'intégrité de la peau. L'oreille est ensuite congelée.

Avant de réaliser les mesures, les oreilles sont mises à décongeler. L'oreille est, ensuite rincée à l'eau. La peau est ensuite prélevée. Elle est placée sur une cellule de Franz spécifiquement conçue remplie de tampon phosphate salin (*Phosphate Buffered Saline*, PBS) comme indiqué à la Figure 23 .

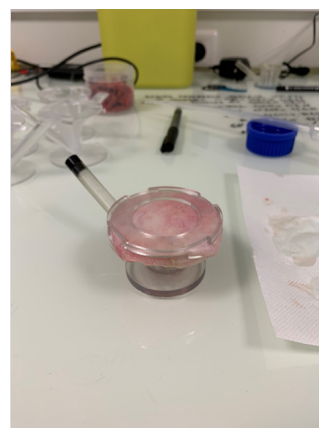
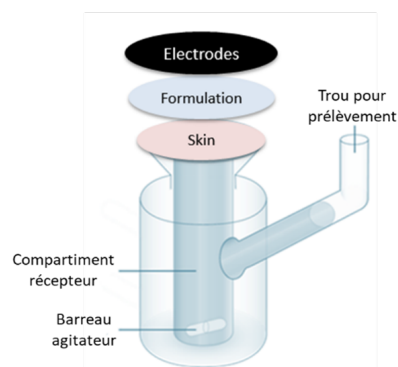


Figure 23 : Configuration de la cellule de Franz utilisée pendant les manipulations in vitro

Les cellules sont placées dans un bain marie à la température de 37°C afin d'émuler la chaleur corporelle et d'obtenir une température de la peau de 32°C.

Un gel de contact ASEPT Unigel est déposé sur chaque pôle des électrodes présentées à la Figure 22.

L'analyseur d'impédance SI1260 de Solartron Analytical a été utilisé pour réaliser la caractérisation électrique des tissus des oreilles de cochon. Ce dernier a fait ses preuves en électrochimie ou dans les tests de matériaux. Les gammes de mesure pour les résistances, les capacités et les inductances sont respectivement de $10\text{ m}\Omega$ à $100\text{ M}\Omega$, de 1 pF à 10 mF et enfin de 100 nH à 1000 H . Il est capable de mesurer une impédance allant de $10\text{ }\Omega$ à $100\text{ k}\Omega$ avec une précision de $0,1\%$ et $0,1^\circ$ sur une plage de fréquences comprise entre $10\text{ }\mu\text{Hz}$ et 100 kHz . Cette précision passe ensuite à $0,2\%$ et $0,2^\circ$ entre 100 kHz et 1 MHz puis à 1% et 1° entre 1 MHz et 10 MHz puis enfin à 10% et 10° jusque 32 MHz .

Cet analyseur d'impédance possède deux ports différentiels pour la mesure de tension et un port de mesure de courant permettant de réaliser de vraies mesures 2, 3 ou 4 pointes. Il est configuré ici en mode 2 pointes. Les données de mesure sont sauvegardées sur un ordinateur portable, le SI1260 communiquant avec ce dernier via un GPIB.



Figure 24 : Le Solartron SI1260 est utilisé comme analyseur d'impédance afin de réaliser les caractérisations électriques de peau d'oreille de cochon

Les électrodes sont connectées au SI1260 grâce à des pinces crocodiles et des câbles coaxiaux d'impédance caractéristique $50\text{ }\Omega$.

Le modèle de Cole a été choisi comme modèle de base afin d'analyser les données recueillies lors de ces caractérisations.

Ce modèle est particulièrement utilisé dans le traitement et l'analyse de données d'impédance [45].

Ce dernier consiste en une résistance basse fréquence R_0 , une résistance haute fréquence R_∞ , un élément phase qui sera désigné par $C(f)$ dans la suite du manuscrit afin de traduire la dépendance en fréquence de cet élément et enfin en une constante α généralement désigné comme coefficient de dispersion.

L'impédance de ce modèle est donnée par la formule [46] :

$$Z(f) = R_\infty + \frac{R_0 - R_\infty}{1 + \left(j \frac{f}{f_c}\right)^\alpha} \quad (3.46)$$

En calculant l'impédance équivalente du modèle de Cole et en remplaçant l'impédance de l'élément à phase constante par son expression :

$$Z_{CPE}(f) = \frac{1}{C(f)(j2\pi f)^\alpha} \quad (3.47)$$

On obtient alors une formulation RC du modèle de Cole :

$$Z(f) = R_\infty + \frac{R_0 - R_\infty}{(R_0 - R_\infty)C(f)(j2\pi f)^\alpha + 1} \quad (3.48)$$

En posant $s^\alpha = (j2\pi f)^\alpha$, l'expression précédente devient :

$$Z(f) = R_\infty + \frac{R_0 - R_\infty}{(R_0 - R_\infty)C(f)(s)^\alpha + 1} \quad (3.49)$$

Les parties réelles et imaginaires de l'expression précédente (3.48) sont telles que :

$$\begin{aligned} & Re(Z(f)) \\ &= R_\infty + \frac{(R_0 - R_\infty)(1 + \omega^\alpha \cos\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)(R_0 - R_\infty)C)}{\left(1 + \omega^\alpha \cos\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)(R_0 - R_\infty)C\right)^2 + \left(\omega^\alpha \sin\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)(R_0 - R_\infty)C\right)^2} \end{aligned} \quad (3.50.1)$$

$$Im(Z(f)) = \frac{-\omega^\alpha \sin\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)(R_0 - R_\infty)^2 C}{\left(1 + \omega^\alpha \cos\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)(R_0 - R_\infty)C\right)^2 + \left(\omega^\alpha \sin\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)(R_0 - R_\infty)C\right)^2} \quad (3.50.2)$$

Le lieu d'impédance de la Figure 25 peut être décrit par l'équation suivante :

$$\begin{aligned} \left(\operatorname{Re}(Z(f)) - \frac{(R_0 + R_\infty)}{2} \right)^2 + \left(\operatorname{Im}(Z(f)) - \frac{(R_0 - R_\infty) \cot\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)}{2} \right)^2 \\ = \frac{(R_0 - R_\infty)^2}{4} \csc^2\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right) \end{aligned} \quad (3.51)$$

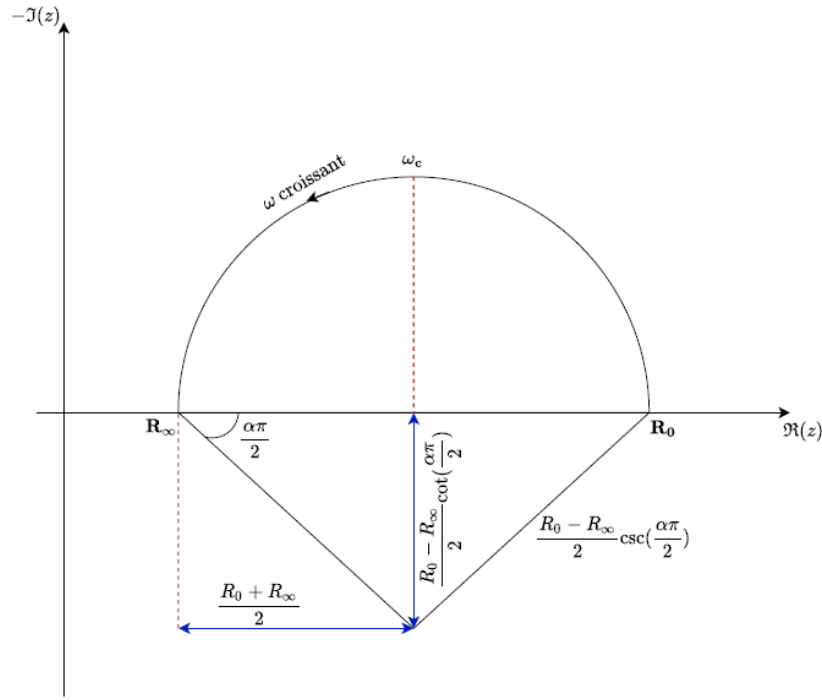


Figure 25 : Lieu d'impédance du modèle de Cole à simple dispersion

Il s'agit d'un cercle dont le centre se trouve sous l'axe des parties réelles de l'impédance et dont le centre se situe aux coordonnées $\left(\frac{R_0 + R_\infty}{2}, \frac{(R_0 - R_\infty) \cot\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)}{2} \right)$ et le cercle a pour rayon $\frac{(R_0 - R_\infty)}{2} \csc\left(\frac{\alpha\pi}{2}\right)$. Ce lieu d'impédance coupe l'axe des parties réelles (axe des abscisses) en deux points : l'un en basse fréquence R_0 et l'autre en haute fréquence R_∞ .

Il s'agit d'un modèle particulièrement utilisé car il est simple et permet d'ajuster de manière assez fine les données expérimentales de bioimpédance. Ce modèle a été utilisé dans de nombreuses applications comme l'utilisation du paramètre α comme biomarqueur fiable de la fibromyalgie [47].

Un exemple de diagramme de Nyquist obtenu après caractérisation électrique des tissus de la peau d'oreille de cochon est présenté à la figure suivante. Le Solartron SI1260 mesure l'impédance avec un signal de test de 100 mV_{RMS} à des fréquences comprises entre 10 Hz et 100 kHz.

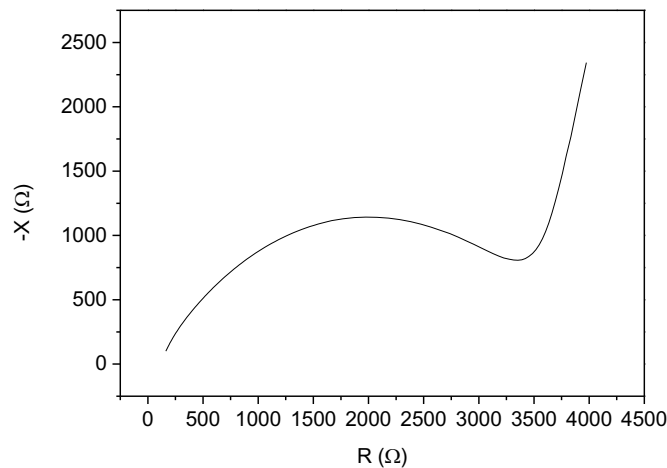


Figure 26 : Diagramme de Nyquist de mesure *in vitro* sur peau d'oreille de cochon

La Figure 26 semblerait indiquer la présence de plusieurs systèmes Cole. Il semblerait que cela soit lié à la domination de phénomènes de dispersion dans différentes parties du spectre fréquentielle. Le modèle de Cole représente une unique dispersion électrique avec une distribution de temps de relaxation donnée.

En effet, les données d'impédance peuvent représenter les contributions de la polarisation des électrodes, de la couche cornée, des canaux sudoripares et des tissus profonds. De plus, chacun de ces éléments peut également être soumis à plusieurs dispersions. Un assemblage de systèmes Cole peut permettre d'interpréter les données d'impédance.

La polarisation d'électrodes est représentée par un seul système Cole. Cependant, plusieurs études ont montré que cette polarisation pouvait parfois être caractérisée par deux dispersions [48]. La couche cornée est dominée par une grande dispersion [49]. Les glandes sudoripares peuvent également présenter une dispersion engendrée par la relaxation des contre-ions [50]. Il semblerait que la peau saine puisse avoir plusieurs dispersions. L'impédance de la peau viable est dominée principalement par le *stratum corneum* aux basses fréquences sous les 10 kHz [51]. Ceci dépend de nombreux facteurs comme l'hydratation de la peau ou encore la géométrie et la taille des électrodes.

Yamamoto et al. ont montré au travers une simulation par éléments finis portant sur un système à deux électrodes concentriques que la couche cornée représentait approximativement 50 % de l'impédance d'une peau saine à 10 kHz et seulement 10 % approximativement à 100 kHz [52].

La couche cornée peut avoir une épaisseur d'approximativement 10 μm qui peut aller jusqu'à 1 mm et même plus sous le pied. Ce *stratum corneum* est un solide ne contenant pas d'eau nécessairement mais dont la teneur en humidité dépend de celle de l'air ambiant. Il n'est pas soluble dans l'eau et est, donc, capable d'absorber jusqu'à deux fois son poids en eau.

La couche cornée peut être considérée comme un électrolyte solide contenant des ions libres de se déplacer et de contribuer ainsi à la conductivité DC. En outre, cette couche externe de la peau

contient également des substances organiques comme des lipides ou des protéines participants eux à la conductivité AC.

La couche cornée de la peau présente une large dispersion de type α qui est causée principalement par les ions comme évoqué précédemment [11]. La peau saine rassemble des dispersions de type α et β bien distinctes.

Il peut également être observé une dispersion de type Maxwell-Wagner à l'interface entre la peau saine et la couche cornée dans la gamme β .

Les dispersions s'observent lors de l'examen électrique de biomatériau en fonction de la fréquence. Il s'agit de la spectroscopie diélectrique. Schwan a divisé, en 1957, les mécanismes de relaxation en trois groupes chacun relié par exemple aux membranes cellulaires, aux organites à l'intérieur des cellules ou encore aux effets électrocinétiques. Ces trois groupes ont été désignés par Schwan à l'aide de lettres grecques : α , β et γ .

Il est possible d'interpréter de deux manières ces groupes de dispersion :

- Ces dispersions sont liées à des gammes de fréquence définies
- Ces dispersions sont liées à des mécanismes de relaxation définis

La dispersion de type α est peu connue. Il semblerait que cette dernière peut se retrouver à des fréquences sous le Hz ou mHz. Il s'agit de la première à disparaître lorsque les tissus meurent.

Les différentes dispersions diélectriques sont regroupées dans le Tableau 4.

Tableau 4

Type	Fréquence caractéristique	Mécanisme
α	mHz-kHz	Effets des ions proches de la surface des membranes, de la membrane cellulaire, de la structure intracellulaire, de la diffusion ionique, et pertes diélectriques
β	1 kHz-100 MHz	Effets Maxwell-Wagner, capacité de la membrane cellulaire, membranes des organites intracellulaires, réponse fréquentielle des protéines
γ	0,1-100 GHz	Mécanismes dipolaires dans les milieux polaires comme les sels, les protéines ou l'eau

Les propriétés électriques du *stratum corneum* et des tissus vivants finissent par converger lorsque la fréquence augmente. L'accroître permet, donc, en théorie, de caractériser des couches plus profondes de la peau.

La peau saine semblerait donc posséder plusieurs dispersions comme mentionné précédemment.

Pour pouvoir adapter le lieu d'impédance de la Figure 25 , le logiciel BT-Lab® de Biologic qui intègre un outil de fit Z-fit avec différents modèles et un éditeur de circuit.

Nous avons considéré deux systèmes de Cole en série. Chacun de ces deux systèmes génèrent un arc de cercle dans le plan complexe.

Ce circuit a été ajouté dans l'éditeur de circuit du logiciel BT-Lab®.

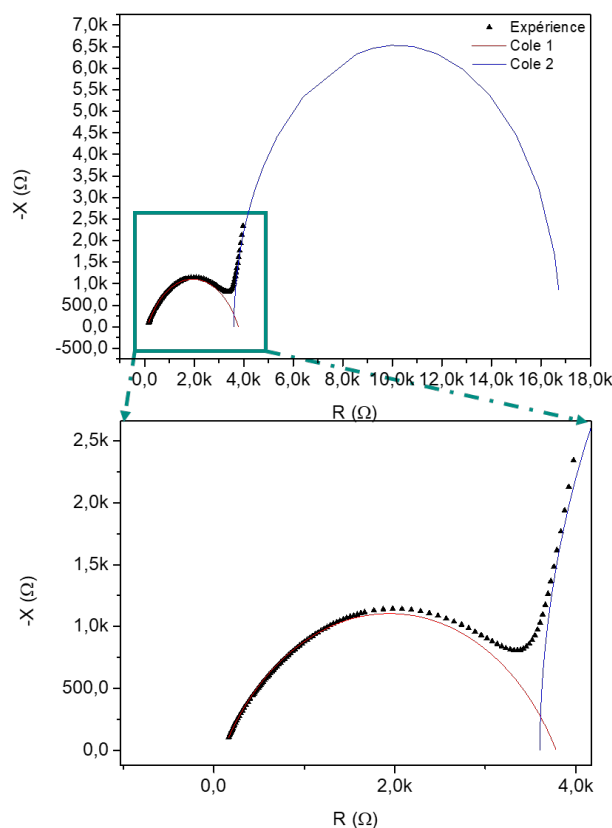


Figure 27 : Fit des données *in vitro* obtenues avec le logiciel BTLab® avec les deux systèmes Cole correspondant aux deux demi-cercles dans le plan complexe. X désigne la réactance de l'impédance et R sa résistance.

Les paramètres des deux systèmes Cole du fit de la Figure 27 sont regroupés dans le Tableau 5.

Tableau 5

Système	R_0 (Ω)	R_∞ (Ω)	α	C	τ
Cole 1	3781	105	0,689	$0,83 \times 10^{-6}$	$2,23 \times 10^{-4}$
Cole 2	13186,24	1,24	0,9944	$7,92 \times 10^{-6}$	$1,03 \times 10^{-1}$

Sur la Figure 27, il est intéressant de remarquer qu'une déviation des données expérimentales intervient au voisinage de la fréquence de coupure (maximum de $-X(\Omega)$ sur le lieu d'impédance) du premier système Cole, Cole 1 par rapport au fit correspondant. Il semblerait que cela soit lié au deuxième système Cole 2 (croix bleus) influant le Cole 1. Cela a pour effet

notamment de réduire l'intervalle de fréquences sur lequel il est possible d'entièrement identifier le système Cole en termes de paramètres.

Des tests *in vitro* sur peaux d'oreille de cochon ont été réalisés dans le but d'observer les effets de la pression sur les données de bioimpédance de la peau.

La peau a été préparée et montée sur une cellule de Franz comme susmentionné. La cellule n'a pas été placée dans un bain marie (Figure 28).

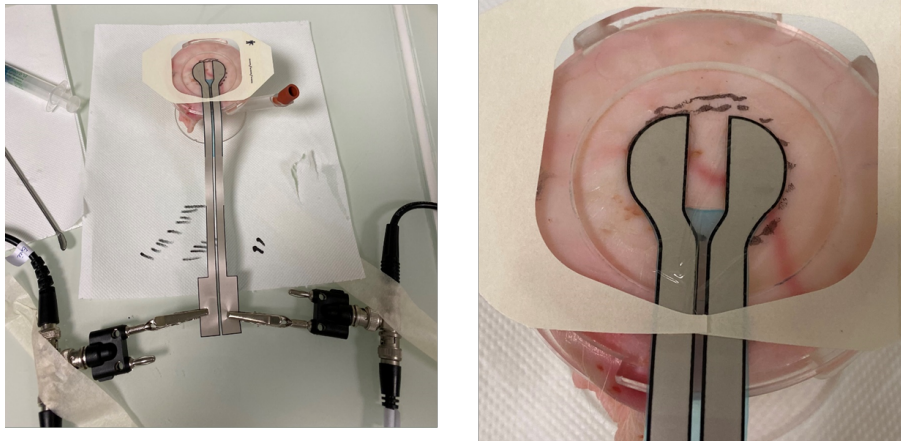


Figure 28 : Configuration utilisée pour réaliser les mesures de bioimpédance afin de mettre en exergue les effets de la pression sur la peau

Deux mesures d'impédance entre 10 Hz et 100 kHz avec un signal de test de 100 mV_{RMS} ont été effectuées avec le Solartron SI1260 en mode 2 pointes sur la peau saine puis sur la même peau après qu'une pression a été appliquée.

Cette dernière est appliquée avec un dynamomètre. La peau est retirée de la cellule puis est déposée sur une feuille plastique. Un actionneur d'un diamètre de 21,2 mm, soit d'une surface de 352 mm^2 , permet d'appliquer la force de 25 N soit une pression de 71 kPa uniformément sur la surface de la peau (Figure 29).

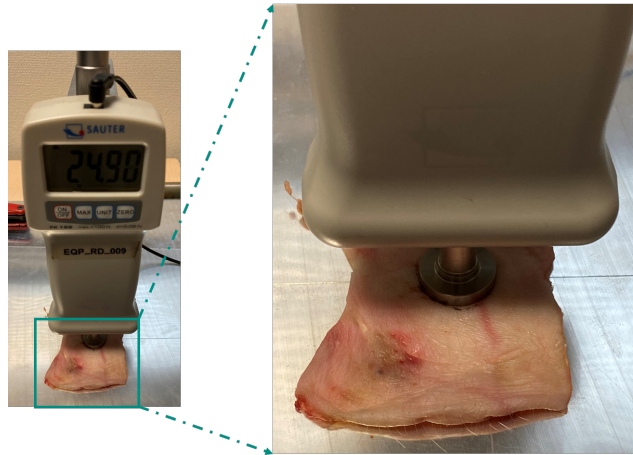


Figure 29 : Une force de 25 N avec un disque de 21,2 mm de diamètre est appliquée sur la peau d'oreille de cochon pendant 60 minutes à l'aide d'un dynamomètre combiné à un actionneur.

Cette peau endommagée est ensuite remontée sur la cellule de Franz pour pouvoir la caractériser électriquement.

Une analyse comparative a été réalisée entre l'impédance des tissus sains et celle du tissu endommagé.

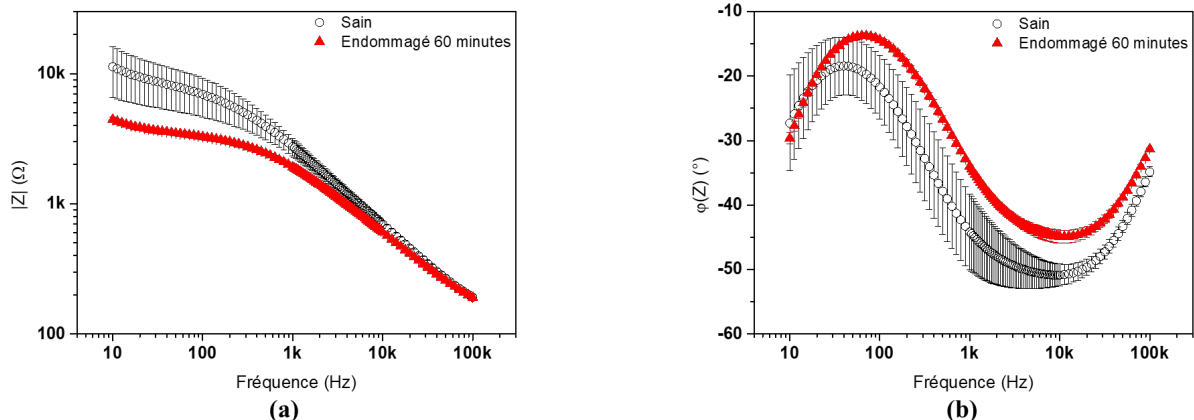


Figure 30 : A gauche et à droite sont représentés, respectivement, le module et la phase de l'impédance pour les tissus sains (noir) et les tissus ayant subi une compression de 60 minutes. Moyenne pour 2 échantillons.

Sur la figure précédente, le module de l'impédance de l'explant de peau porcine diminue après avoir subi un écrasement mécanique de 25 N pendant 60 minutes. En outre, la phase des tissus endommagés tend vers 0. Ces tissus sont donc moins capacitifs et plus conducteurs. Cela mettrait en exergue une perte d'intégrité de la membrane cellulaire.

Cette étude *in vitro* met en exergue le potentiel de la spectroscopie d'impédance pour la détection de plaie compressive.

Dans la suite du manuscrit, nous verrons qu'une étude *in vivo*, suite logique à cette étude préliminaire, a pu être mise en place afin d'adjoindre la complexité de la dynamique du vivant à ce type de plaie compressive.

3. Mise en évidence de l'ulcère de pression sur tissu murin par bioimpédance

3.1. Modèle murin de l'ulcère de pression

Les différentes expérimentations *in vivo* ont été conduites conjointement avec le laboratoire Hypoxie et Physiopathologies cardiovasculaires et respiratoires (HP2) de l'Université Grenoble Alpes. Elles ont été menées sous la direction du Docteur Sylvain Kotzki, Maître de conférences, avec l'aide du Docteur Raphaël Bouvet et du Doctorant Axel Couturier.

De nombreuses études récentes se sont intéressées aux différents mécanismes *in vitro* et *in vivo* impliqués dans le développement des ulcères de pression. Quatre principales voies semblent se dégager dans le développement des escarres de pression : lésions de type ischémie-reperfusion [53], de type ischémie [54], des déformations cellulaires [55] ou des lésions provoquées par l'altération des fluides interstitiels et du drainage lymphatique [56].

Le modèle d'ulcère de pression utilisé pour les manipulations est celui d'ischémie-reperfusion. Un tissu privé de son approvisionnement en sang pendant une longue période peut réduire son métabolisme afin de préserver sa fonction [53] [57]. Cette ischémie tissulaire peut, néanmoins, déclencher une série d'évènements conduisant à la dégradation ou à la mort de cellules

La reperfusion du sang vers ce tissu privé d'oxygène et de nutriments peut provoquer une cascade d'évènements délétères [58]. Cette reperfusion subséquente à l'ischémie génère des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO/ROS en anglais) tels que des radicaux libres, une défaillance mitochondriale, un dysfonctionnement endothélial et une inflammation stérile. Les niveaux de ces radicaux libres surpassent la capacité de piégeage des radicaux libres induisant, ainsi, un effet cytotoxique dans le tissu [59].

Différentes hypothèses ont été émises sur la composition des différentes voies de lésions résultantes du cycle d'ischémie reperfusion. Elles comprennent le gonflement des cellules endothéliales associées au recrutement de monocytes et de macrophages [60], la réduction du diamètre des artérioles [61], un changement de perméabilité des veinules postcapillaires engendré par l'adhésion des leucocytes [62] et l'augmentation de la résistance à l'écoulement au niveau de la microcirculation.

Plusieurs modèles *in vivo* ont été développés sur la souris afin de cerner l'étiologie de l'ulcère de pression chronique au regard de l'ischémie. La pression est appliquée grâce à un dispositif mécanique, généralement deux aimants, qui vient pincer la peau de l'animal anesthésié et, ainsi, créer l'escarre de pression. Certains modèles se basent sur l'application unique d'une pression élevée sur des animaux anesthésiés. Plusieurs griefs ont été émis contre ses modèles cliniquement peu pertinents. En effet, l'anesthésie provoque divers effets physiologiques sur l'animal une fois réveillé pouvant perturber les effets de la pression sur le développement de l'escarre. En outre, les conclusions de ces études se basent, uniquement, sur l'analyse des

conséquences de l'ischémie sur le développement des ulcères de pression en occultant la blessure engendrée par la reperfusion. Il est, aussi, possible d'émettre quelques réserves sur certains modèles tenant compte de cette dernière dans le développement de l'escarre en raison de l'utilisation d'animaux anesthésiés et/ou des pressions élevées sur une période d'application trop courte [63] [64].

Le modèle exploité au cours de nos tests a été développé par l'INSERM conjointement avec le CHU de Lyon. Il a été adapté à partir du travail de Stadler *et al.* [65].

Les souris sont dépilées vingt-quatre heures avant le début de l'induction d'ulcère de pression sur la moitié base du dos (carré de 4 cm de côté environ). Les animaux doivent être placés, impérativement, dans des cages individuelles.

Le modèle de lésion cutanée utilisé pour développer les ulcères est de type plaie de pression. Des aimants sont apposés de part et d'autre d'un pli de la peau. Cette méthode est non invasive.

Les animaux sont anesthésiés avec de l'isoflurane sous masque. L'induction se fait avec un taux de 3% et le maintien de l'anesthésie à 1,5%. Une analgésie est réalisée sur l'animal avant la création de l'escarre de pression grâce à une injection de buprénorphine, agoniste partiel morphinique, avec une concentration de 0,1mg/kg. Deux aimants (10 mm de diamètre, force de 5,5 N, MAGSY, Zlín-Prštné, République Tchèque) sont positionnés sur la peau rasée de l'animal dans sa région dorsale, pinçant à la fois sa peau et le panniculus carnosus sous-jacent sur une épaisseur de 5 mm environ. Une pression d'environ 525 mmHg est appliquée grâce à ces aimants. La Figure 31 illustre les différentes étapes du modèle d'escarre de pression *in vivo*.



Figure 31 : Schéma et photographies représentant la procédure expérimentale de création de l'escarre montrant la position des aimants et la technique pour la création de l'ulcère de pression sur le dos de la souris. (a) Schéma de principe. (b) Position finale des aimants afin d'initier le cycle d'ischémie

Les ulcères de pression sont créés avec trois cycles d'ischémie/reperfusion (Figure 32). Chacun de ces cycles se compose de deux phases. La première consiste à appliquer une force magnétique avec les deux aimants pendant deux heures suivie de la seconde comprenant un relâchement de cette pression pendant quinze minutes. A chaque étape, les animaux sont replacés dans leur cage individuelle. Juste après le relâchement de la pression, une friction est

appliquée sur chacun des escarres à l'aide d'une fine tige métallique recouverte d'un morceau d'essuie-tout : trois fois dans la direction cuisse-cuisse et trois dans la direction tête-queue. Cela permet de reproduire au mieux les facteurs déclenchants de l'ulcère du pied diabétique. Les souris sont anesthésiées, uniquement, lors du positionnement des aimants et lorsque ces derniers sont retirés. Les souris tolèrent bien la procédure et reprennent leur activité normale une fois les cycles d'ischémie/reperfusion terminés. Il faut six heures et trente minutes pour réaliser l'ulcère de pression.

Finalement, pour chaque animal, deux escarres sont créées de manière symétrique à la colonne vertébrale avec environ 5 mm d'espacement (Figure 32).

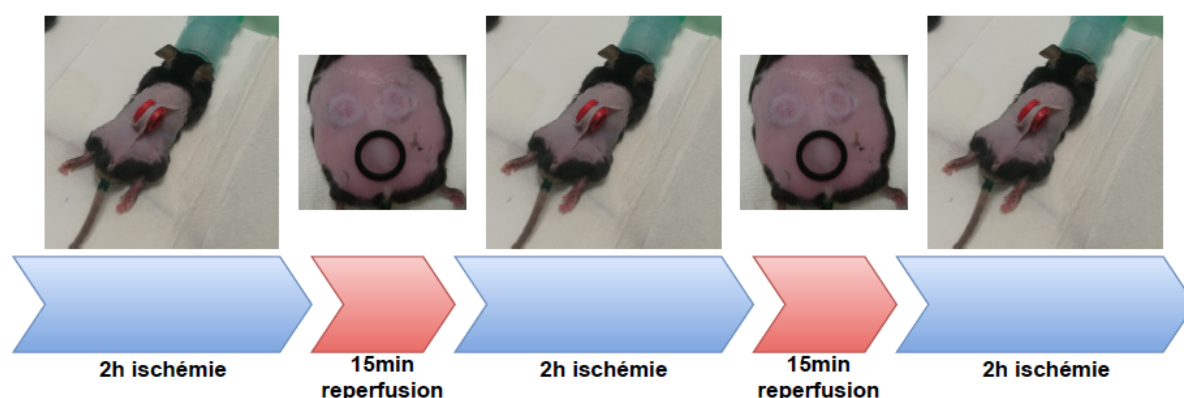


Figure 32 : Trois cycles ischémie/reperfusion constituent le modèle de l'ulcère de pression

3.2. Protocole expérimental

Le but de cette étude *in vivo* réalisée au sein du laboratoire HP2 est d'évaluer la pertinence de la spectroscopie d'impédance comme détecteur d'escarre. De plus, à travers ces essais, nous verrons si les mesures de bioimpédance peuvent servir à caractériser électriquement l'évolution de la cicatrisation de cette plaie chronique.

Deux phases de manipulation *in vivo* ont été planifiées. La première, plus exploratoire, nous a permis, tout d'abord, d'appréhender les exigences inhérentes aux expérimentations animales et ensuite de caler les différents paramètres de notre protocole expérimental : type d'électrodes, positionnement de ces dernières vis-à-vis de la plaie, gel utilisé, ou encore les paramètres électriques du balayage fréquentiel. Ensuite, la seconde phase a servi, non seulement, à optimiser le protocole expérimental précédemment mise en place mais aussi à confirmer les différentes conclusions obtenues lors de la première phase.

Les deux protocoles ont été approuvés par un comité local de révision institutionnelle (comité éthique de Grenoble : 489#20911-2019053010393924 v3) et menés en accord avec le guide des Instituts Américains de la santé (National Institutes of Health) pour le soin et l'utilisation des animaux de laboratoire (the Care and Use of Laboratory Animals).

Les souris servant à la phase 1 de l'expérimentation sont des mâles âgés de onze semaines de type C57BL/6JRj. Les souris ont été acquises auprès de Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, France).

Les souris de la deuxième étude sont des mâles âgés de onze semaines de type db/db (BKS(D)-Lepr^{db}/JOrlRj), modèle génétique obèse de diabète de type 2. Les souris ont été acquises auprès de Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, France).

Les animaux sains et diabétiques possèdent une fourrure épaisse et noire. Il est donc impératif de les épiler afin de permettre l'étude de plaies. La dépilation provoque une légère irritation de la peau. Cette dernière peut perturber la mesure d'impédance. Elle doit, donc, s'effectuer au mieux 24h avant la réalisation des manipulations. Nous avons choisi de dépiler les animaux 72 h avant le début des expériences.

En outre, la dépilation favorise la pousse des poils. Ceci entraîne l'apparition d'ilots de poils noirs sur la peau pouvant perturber la mesure. Ainsi, une seule dépilation a lieu au début de la campagne de mesures.

Ces dernières doivent être placées dans des cages individuelles au mieux 24 heures avant de réaliser la dépilation. Si ce n'est pas possible, il faut placer les souris dans des cages individuelles juste après dépilation pour éviter qu'elles ne se mordent entre elles. Cette agressivité est exacerbée par l'odeur de crème dépilatoire.

Le protocole suivant est utilisé pour la dépilation des souris des deux types.

Il faut préparer les éléments suivants :

- Un premier grand récipient d'eau tiède à une température d'environ 30°C et un deuxième avec, également, de l'eau tiède mais complétée de savon hypoallergénique
- Crème dépilatoire Veet®
- Compresses
- Coton-tige
- Rasoir électrique

Les souris sont anesthésiées avec de l'isoflurane (induction 4 % puis au masque à 2 %). Elles sont placées sur une plaque chauffante à une température de 37 °C. Ensuite, les poils doivent être rasés de près à l'aide du rasoir électrique. Les poils coupés sont retirés de l'animal à l'aide d'une compresse sèche. La crème dépilatoire est étalée grâce à un coton-tige sur la zone rasée et est massée pour la répartir uniformément la crème entre les poils. La quantité déposée est équivalente à une grosse noix. La crème doit être laissée en contact avec la peau pendant 30 secondes.

L'excédent de crème est retiré à l'aide d'une nouvelle compresse sèche. Une autre imbibée d'eau savonneuse tiède permet de retirer les résidus de crème. Enfin, la peau est soigneusement rincée avec une quatrième compresse humide.

La peau est finalement séchée en la tamponnant avec du papier absorbant.

Chaque souris dépilée est placée dans une cage individuelle puis rentrée dans l'animalerie.

Tout d'abord, une mesure d'impédance est réalisée sur chacun des emplacements des ulcères de pression pour chaque animal le jour précédent leurs réalisations ainsi que le jour de leurs inductions. Cet ensemble de données correspond à la mesure d'impédance de référence $Z_{ref}(\omega)$. L'emplacement des aimants est tracé au préalable avec un marqueur indélébile.

Ensuite, l'impédance $Z_{J_n}(\omega)$ est évaluée, chaque jour, sur chaque plaie de pression, sur chacune des souris, afin de réaliser un suivi de l'évolution de cicatrisation de la plaie chronique.

Les animaux sont maintenus sous anesthésie avec de l'isoflurane sous masque. L'induction se fait avec un taux de 3 % et le maintien de l'anesthésie à 1,5 %. Les souris sont placées sur une plaque chauffante associée à un contrôleur de température animale (Physitemp TCAT-2LV) pour les maintenir à 37 °C, afin de leur éviter une hypothermie (Figure 33) pendant la phase de mesure d'impédance.



Figure 33 : Souris positionnée sur la plaque chauffante et maintenue anesthésiée sous masque. La température de la plaque chauffante est de 37°C.

Lorsque cette mesure est terminée, les souris sont capables de revenir à une activité normale après quelques minutes.

Les mesures d'impédance sont réalisées par le Solartron SI1260 interfacé en USB sur un ordinateur portable grâce au contrôleur GPIB IEEE 488 de National Instruments (Figure 34).

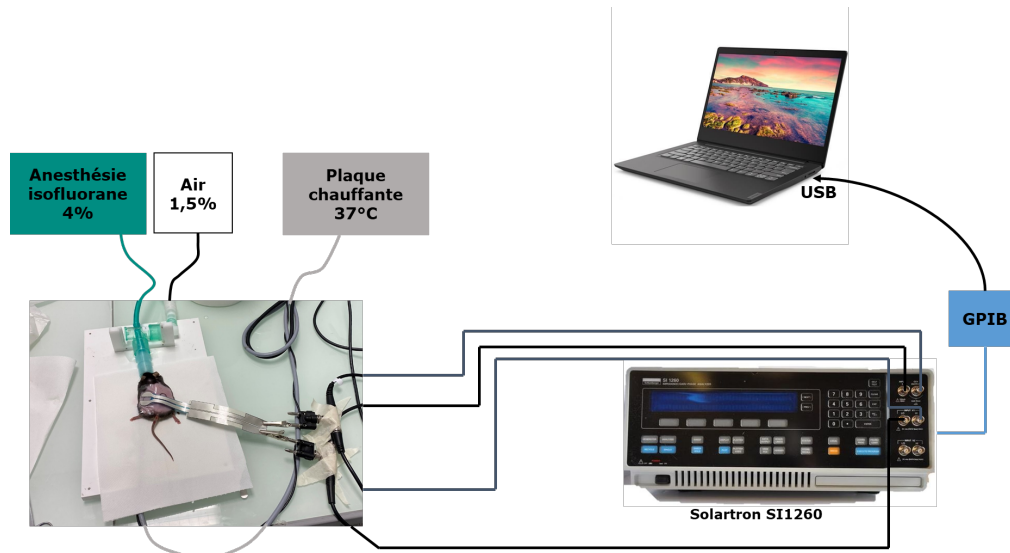


Figure 34 : Configuration expérimentale utilisée afin de réaliser la caractérisation électrique des tissus murins

Afin de réduire la résistance de contact à l'interface entre la peau et l'électrode, de l'hydrogel est déposé sur chaque pôle des électrodes sur une épaisseur d'environ 1 mm. Il s'agit du Suprasorb G. Ce gel est principalement composé d'eau associé à du carboxyméthylcellulose et de propylène glycol. Le gel permet de désagréger les tissus nécrotiques et d'éliminer les dépôts, en particulier dans les plaies profondes. Il est, en outre, particulièrement visqueux et ne risque pas de s'étaler lors de l'application de l'électrode sur le dos de l'animal.

Afin de caractériser l'atteinte des différentes couches constitutives de la peau engendrée par l'ulcère de pression, les électrodes sont placées au centre de ce dernier (Figure 35).

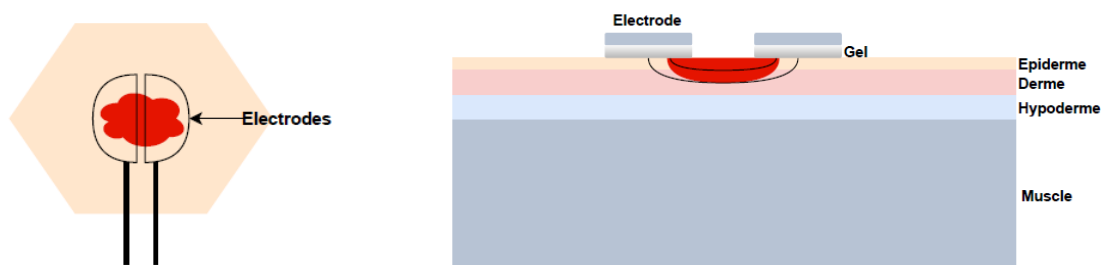


Figure 35 : Disposition des électrodes utilisée lors des mesures de bioimpédance. La zone rouge correspond à l'ulcère de pression.

Comme le suggère la figure précédente, nous avons opté pour une mesure deux points. La technique quatre points fournit une mesure plus précise de l'impédance que celle deux points car l'impédance parasite provenant des câbles est éliminée. Cependant, comme l'ont souligné Swisher, S. L. et al, dans les informations complémentaires à leur article « *Impedance sensing device enables early detection of pressure ulcers in vivo* » [66], en pratique, les mesures quatre points *in vivo* deviennent difficiles, intrinsèquement en raison de divers facteurs tels que le

« problème du chemin du courant » et les contacts non idéaux à l'interface électrode-tissu. Il est particulièrement ardu de mesurer l'impédance de matériaux non-homogènes.

En effet, le courant empruntera le chemin de plus petite résistance entre deux électrodes plutôt que la voie directe qui est normalement prévue pour un matériau homogène. Ce problème de conduction est amplifié avec une configuration à quatre électrodes même si cette technique permet de réduire drastiquement les problèmes d'impédance de contact et de parasitage. Un système de mesure d'impédance avec 4 pointes alignées repose sur l'hypothèse que le courant généré par la paire d'électrodes extérieures traverse le tissu à caractériser uniformément et que la tension résultante mesurée par les électrodes intérieures permet de déterminer l'impédance par application de la loi d'Ohm. Cependant, si le courant emprunte un chemin autre que celui tout indiqué, c'est-à-dire tout droit dans le matériau entre les électrodes de mesure, la tension résultante donnée par $\underline{U} = Z\underline{I}$ pourrait s'avérer très faible faussant, ainsi, la caractérisation.

Les systèmes de mesure à haute précision se basent sur une fonction de nivellement automatique permettant d'assurer la linéarité lors des mesures d'impédance qui empire le problème. En effet, comme le courant des électrodes de commande contourne le tissu situé entre les électrodes de détection, le circuit de commande doit forcer afin de maintenir une tension constante au niveau des électrodes de détection. La mesure de bioimpédance devient alors difficile.

Cette incertitude autour du chemin du courant est toujours présente avec la technique deux pointes mais l'impact sur la mesure d'impédance est bien moindre.

Nous avons donc opté pendant nos expériences animales pour une mesure à deux électrodes.

Les électrodes flexibles sont maintenues sur le dos de l'animal avec un film adhésif Tegaderm™ 3M. En outre, ce dernier permet, également, d'exercer une pression afin de réduire la résistance de contact à l'interface électrode-tissu (Figure 36).

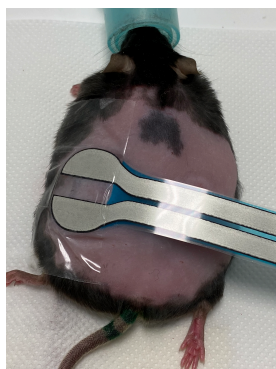


Figure 36 : Les électrodes flexibles sont maintenues avec un film adhésif Tegaderm™ 3M pendant la mesure.

En parallèle de ces mesures de bioimpédance, pour évaluer l'évolution de la lésion de pression, des photographies sans flash des zones lésées ont été prises tous les jours sur dos bien plat. La source lumineuse et la distance appareil photographique-sujet photographié sont constantes.

Pour chaque souris, trois photos sont prises :

- Escarre flanc droit
- Escarre flanc gauche
- Vue d'ensemble du dos l'animal avec les deux escarres

Un cercle de diamètre 14 mm est utilisé comme référence de mesure.

Les mesures de surface de lésion pour les jours de suivi ont été effectuées à l'aide du logiciel ImageJ à partir des photographies macroscopiques.

Le protocole pour le traitement des images est le suivant :

- Ouvrir la photographie à l'aide d'ImageJ
- Utiliser l'outil ligne F2 pour tracer le diamètre intérieur du cercle servant de mesure de référence dans les images
- Indiquer au logiciel ImageJ via l'outil Set Scale F3 que cette ligne vaut 14 mm
- Délimiter la zone lésée
- Mesurer la surface des zones lésées avec la touche F5. Une nouvelle fenêtre apparaît avec la valeur.

Cette dernière valeur est, par la suite, reportée dans une feuille Excel.

Afin de pouvoir établir un lien entre le comportement électrique des tissus obtenues après analyse des spectres d'impédance et la cinétique biologique de cicatrisation à des jours clés, des prélèvements de peau ont été effectués afin de pouvoir réaliser des coupes histologiques.

Ces résultats d'histologie ont été obtenus à partir de tissus prélevés aux différents jours clés. Ces tissus ont été fixés puis inclus en paraffine.

Chacun de ces prélèvements est précédé de la mise à mort de l'animal. Elle s'effectue par dislocation cervicale sous anesthésie.

Les prélèvements sont réalisés dans les cinq minutes qui suivent la mort de l'animal.

Pour pouvoir prélever les échantillons de peau, le protocole suivant a été respecté :

- Dépiler la peau pour prélever des tissus non lésés ou complètement cicatrisés. Pour les tissus endommagés, il n'y aura pas de dépilation mais uniquement un rasage de près.
- Nettoyer la peau à l'éthanol 70° puis sécher cette dernière avec du papier absorbant. Il faut veiller à une évaporation totale de l'éthanol.
- Enfin, prélever les échantillons de peau pour l'analyse histologique ultérieure.

Le prélèvement s'effectue de la manière suivante :

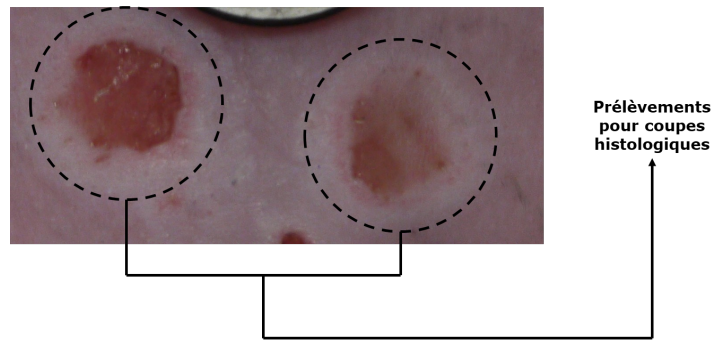


Figure 37 : Procédure de découpe de peau afin de réaliser les échantillons pour les coupes histologiques

Les échantillons de peau prélevés sont, ensuite, placés à plat entre deux mousses dans une cassette. Le tissu est fixé dans un bain d'alcool-formol-acide acétique pendant 24 heures à température ambiante.

3.3. Analyse des résultats et discussion

L'un des buts de cette phase de manipulation *in vivo* est d'étudier la viabilité de la mesure d'impédance comme détecteur de plaies chroniques comme, dans notre cas, les ulcères de pression.

Comme susmentionné, deux types d'animaux ont été utilisés au cours de cette phase de manipulations : des souris saines et des souris diabétiques. Les caractérisations électriques des plaies ont été menées au cours de deux campagnes. Ici, il ne s'agira pas de conclure si le diabète a une influence sur l'apparition de l'ulcère de pression.

Les souris non diabétiques représentent une population de plaies de 6 échantillons et celles atteintes du diabète (hyperglycémiques) constituent une population de 8 plaies. Nous avons donc un panel de 14 échantillons à notre disposition pour apporter une conclusion à notre hypothèse de départ.

Le système mesure l'impédance en utilisant une tension constante 100 mV_{RMS} comme signal de test aux fréquences comprises entre 10 Hz et 100 kHz. Ce signal passe au travers les deux pôles des électrodes.

Les résultats de ces mesures sont regroupés dans les figures Figure 38 et Figure 39. Pour les souris non diabétiques, la moyenne est effectuée sur six plaies. La moyenne du module et de la phase pour les souris diabétiques a été calculée sur 6 plaies.

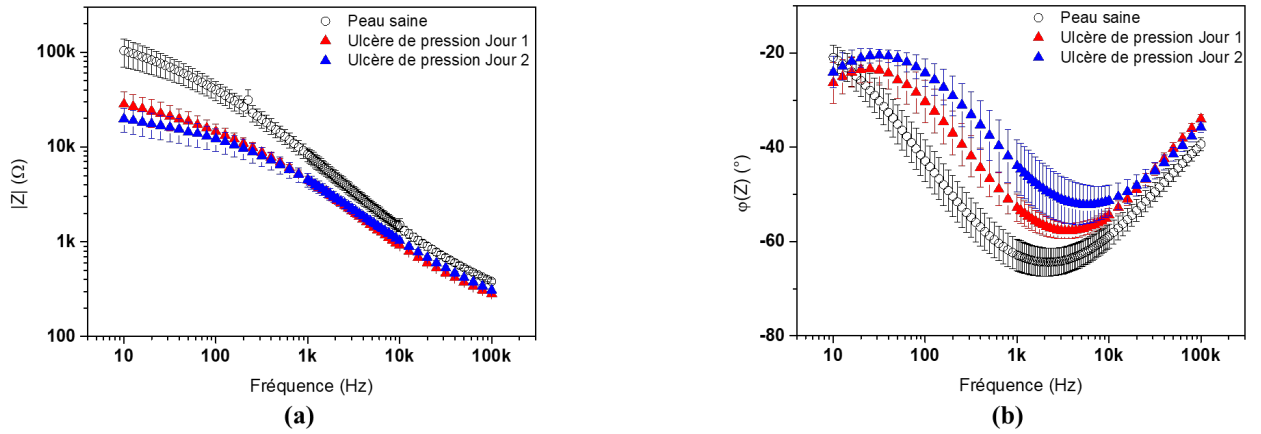


Figure 38 : Comparaison des moyennes du module (a) et de la phase (b) de l'impédance pour souris C57 avec une peau saine et une peau avec ulcère de pression à Jour 1 et 2

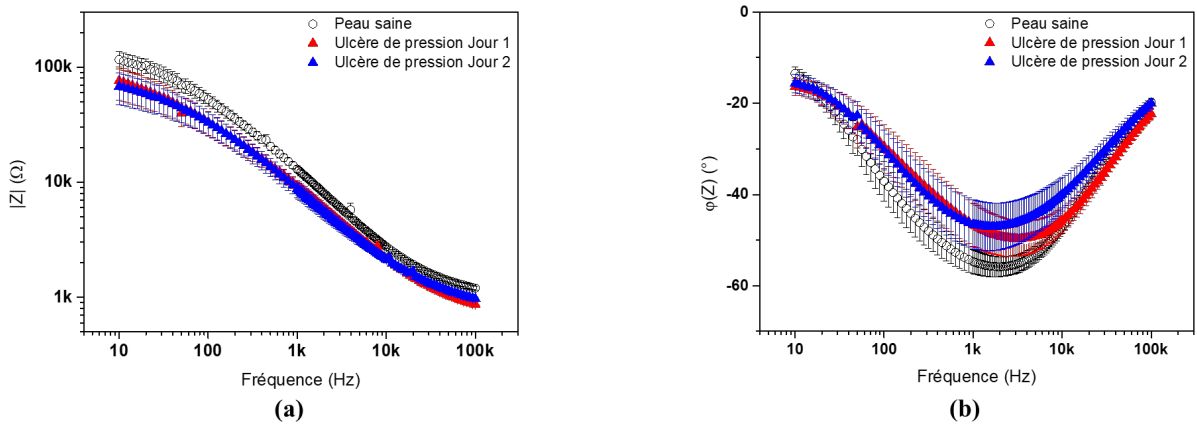


Figure 39 : Comparaison des moyennes du module (a) et de la phase (b) de l'impédance pour souris BKS avec une peau saine et une peau avec ulcère de pression à Jour 1 et 2

Sur ces deux figures, il est clair que le module diminue et la phase de l'impédance augmente aux Jours 1 et 2 de l'ulcère de pression. Ces deux valeurs caractérisant l'impédance complexe tendent vers 0. Ceci se traduisant électriquement par des tissus plus conducteurs et moins capacitifs.

Ces résultats sont en adéquation avec une perte d'intégrité cellulaire caractéristique de mort cellulaire [67]. Ces résultats ont été mis en exergue par Swisher, S. L. *et al.* dans leur article *Impedance sensing device enables early detection of pressure ulcers in vivo*. Cependant, le modèle d'ulcère de pression est différent. L'ulcère est induit, dans l'étude américaine, avec un cycle d'ischémie d'une ou trois heures. Notre méthode d'induction dure six heures et trente minutes avec trois cycles d'ischémie de deux heures et deux cycles de reperfusion de quinze minutes chacun. En outre, la pression appliquée est plus importante dans notre étude de l'ordre de 525 mmHg contre environ 50 mmHg dans l'étude américaine.

La fréquence $F = 5248,075 \text{ Hz}$ a été choisie comme fréquence de seuil afin de détecter l'ulcère de pression. Les valeurs de module et de phase de l'impédance pour cette fréquence sont regroupées dans le Tableau 6.

Tableau 6

$F = 5248,075 \text{ Hz}$	$ Z _{C57}$	$\varphi(Z)_{C57}$	$ Z _{BKS}$	$\varphi(Z)_{BKS}$
Peau saine	2279 Ω	-62°	4122 Ω	-53°
Ulcère de pression Jour 1	1429 Ω	-57°	3189 Ω	-49°
Ulcère de pression Jour 2	1562 Ω	-52°	3040 Ω	-44°

Les aires sous les courbes du module de l'impédance ont également été calculées pour les souris BKS à l'aide du logiciel d'IBM SPSS afin de mettre en exergue la spectroscopie d'impédance comme technique de détection de plaies chroniques.

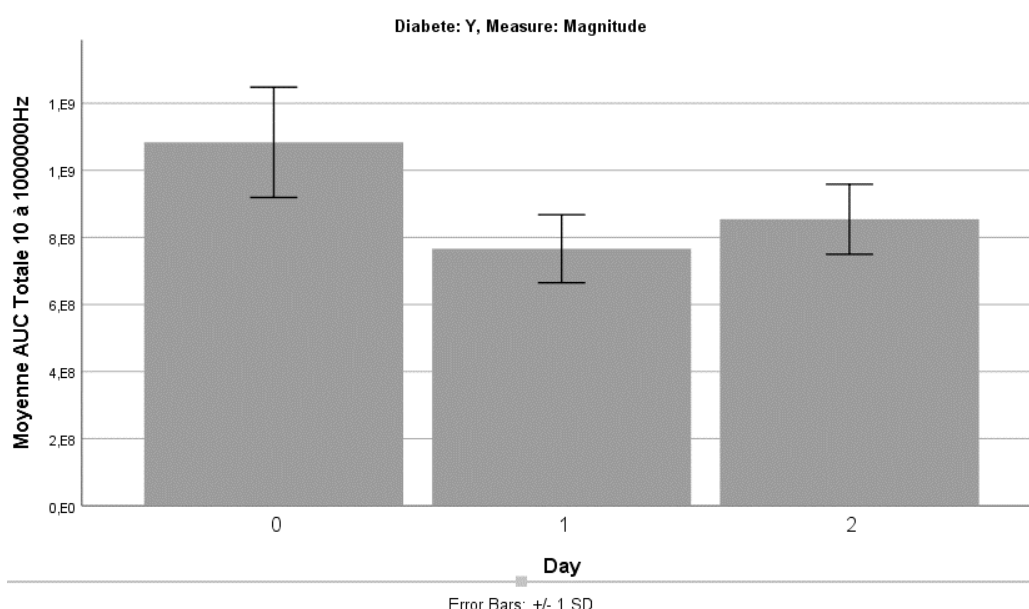


Figure 40 : Aire sous la courbe de la magnitude de l'impédance mesurée pour les souris BKS. La colonne 0 correspond à Peau saine, la colonne 1 à Ulcère de pression Jour 1 et enfin la colonne à l'Ulcère de pression Jour 2

La mesure journalière d'impédance nous a permis d'établir une première indication sur le suivi de cicatrisation de l'ulcère de pression.

Par la suite, après cette analyse qualitative des données d'impédance permettant d'affirmer que la spectroscopie d'impédance permet de détecter l'escarre, une étude quantitative a été menée. Le but de cette dernière est d'examiner la mesure de bioimpédance comme indicateur de la cicatrisation de cette plaie chronique.

Une mesure d'impédance sur peau saine pour les souris BKS est, tout d'abord, réalisée nous servant de référence. Une mesure journalière électrique sur chacune de leurs plaies est, ensuite, effectuée.

Les données sont stockées sur ordinateur pour analyse suivant la méthode présentée ci-dessous (Figure 41).

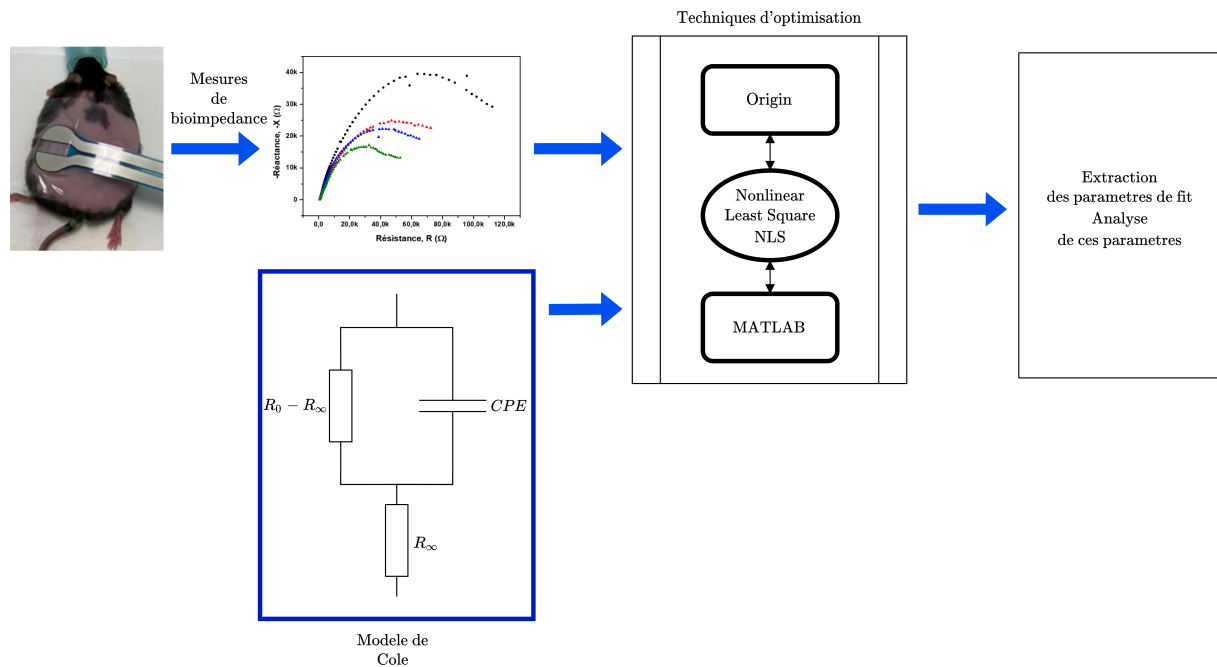


Figure 41 : Méthode utilisée pour analyser les données d'impédance récoltées. Il s'agit d'utiliser le modèle d'impédance de Cole et d'en extraire les paramètres pour chaque jour. Ces derniers seront analysés pour en étudier leur variation au cours de la cicatrisation.

Le modèle d'impédance de Cole est utilisé afin d'analyser et d'apporter des conclusions sur les mécanismes de cicatrisation grâce à l'extraction des paramètres associés à ce modèle empirique. Ce modèle a été présenté à la partie précédente traitant des résultats de la partie *in vitro* (Partie 2.3).

Un exemple montrant la pertinence de la spectroscopie d'impédance comme indicateur de la cicatrisation de plaie chronique est montré aux figures suivantes.

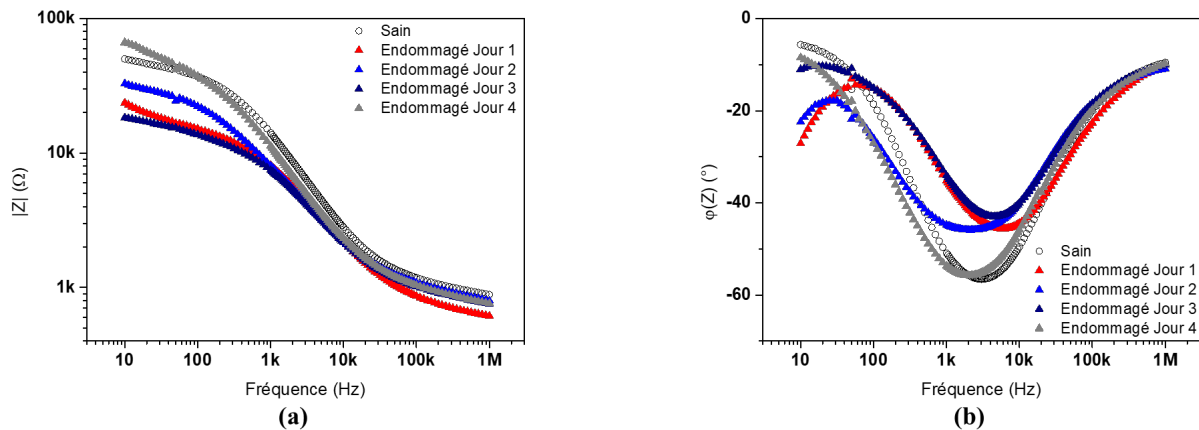


Figure 42 : Une mesure est effectuée sur peau saine (Sain) puis pendant 4 jours sur l'ulcère de pression (Endommagé Jour). Sont représentés ici le module (a) et la phase de l'impédance (b).

Il est intéressant de noter que le module de l'impédance diminue le jour suivant la création de l'escarre (Endommagé Jour 1) puis tend à remonter les jours suivants jusqu'à la valeur de peau saine. Cette même tendance s'observe également sur la phase de l'impédance.

La spectroscopie d'impédance semblerait donc être pertinente dans le suivi de cicatrisation de plaies ischémiques.

Comme indiqué à la Figure 41, deux logiciels ont été utilisés afin d'exploiter au mieux les données d'impédance en les fittant avec le modèle Cole et en extrayant les paramètres de ce modèle.

Sur le logiciel *Origin Lab*, la partie réelle et imaginaire du modèle Cole en formulation RC sont fittées grâce à la méthode des moindres carrés. La tolérance est fixée à 10^{-15} et le nombre d'itérations est fixée à 500.

En outre, le critère, pour trouver l'intervalle de fit le plus optimal sur le lieu d'impédance, utilise le khi-deux. En effet, sur l'intervalle considéré, sa valeur doit être le plus proche possible de 1 et même inférieur. Un exemple est présenté à la figure suivante :

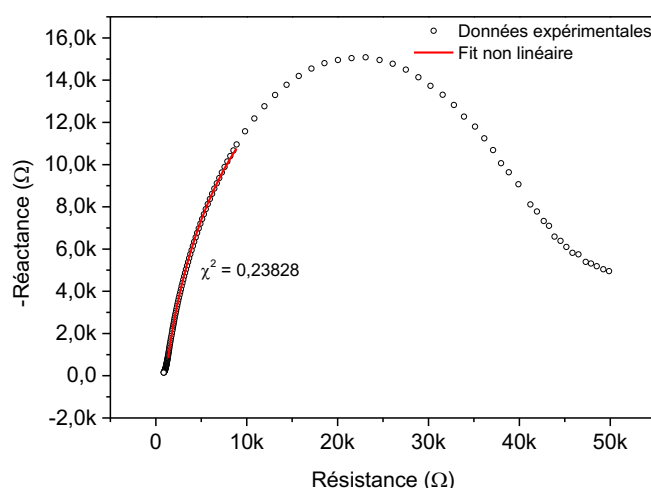


Figure 43 : Exemple de fit sur données in vivo en utilisant le logiciel OriginPro

La qualité du fit de la Figure 43 est bonne. Les paramètres de ce fit sont donnés dans le Tableau 7.

Tableau 7

Paramètre	Valeur	Écart type
R_{∞} (Ω)	1107,39192	$\pm 5,92492$
R_0 (Ω)	36977,67767	$\pm 230,88005$
C	4,26396E-8	$\pm 5,45776E-10$
α	0,83485	$\pm 0,00134$

L'écart type calculé par le logiciel *OriginPro* pour chacun des paramètres du système Cole présentés dans le tableau ci-dessus est respectivement égal à 0,53 %, 0,62 %, 1,28 % et 0,16 % de la valeur du paramètre, ce qui montre la qualité du résultat obtenu.

Plusieurs fichiers de mesures ¹ont tout d'abord été traités de manière manuelle afin de déterminer les paramètres du système Cole et de mettre au point une procédure systématique d'analyse. Compte-tenu du temps nécessaire au traitement d'un seul fichier et du nombre total de fichiers à étudier, de l'ordre de plusieurs centaines, nous avons décidé de développer un script Matlab¹. Ce dernier permet d'automatiser cette recherche des paramètres du système Cole sur un grand nombre (> 300) de fichiers de données expérimentales en tirant profit des fonctionnalités du langage Matlab à savoir la présence de deux fonctions d'identification de paramètres qui sont *lsqnonlin* et *fmincon* et pour lesquelles nous avons déjà une certaine expérience de leur utilisation pratique.

La bibliothèque **zfit** qui a été ainsi créée est, donc un ensemble de fonctions qui a pour but de traiter les fichiers expérimentaux de mesure de bioimpédance. Ces données sont sauvegardées

¹ Les sources seront disponibles ultérieurement dans l'article « A Matlab library for the automatic extraction of Cole Model parameters applied to bioimpedance data » en cours de préparation.

en ASCII suivant le format constitué de trois colonnes : fréquence, résistance, et opposé de la réactance mais aussi suivant un format CSV créé par le logiciel SmaRT associé à l'appareil de mesures SOLARTRON. Les deux types de fichiers sont pris en compte par zfit.

Les quatre formulations suivantes de l'impédance complexe sont prises en compte dans zfit :

- 1- Simple Cole en formulation C
- 2- Double Cole correspondant à la superposition de deux systèmes Cole utilisé dans la partie *in vitro*
- 3- Poon Choy [68]
- 4- Hirschorn [69] [70]

Pour chacune de ces relations, un algorithme d'identification paramétrique a été utilisé afin de déterminer les paramètres critiques de ces modèles, à savoir :

- La résistance basse fréquence R_0
- La résistance haute fréquence R_∞
- L'élément à phase constante $C(f)$
- Le paramètre adimensionnel α

L'étude bibliographique a mis en évidence que les algorithmes de minimisation utilisés dans des codes souvent écrits dans le langage Matlab reposent soit sur une technique de minimisation :

- avec contraintes inégalités (fonction **fmincon** de Matlab) [71]

- sans contraintes (fonction **lsqnonlin** de Matlab ou **fminsearch** de Matlab) [72]

Le point commun de ces méthodes est la nécessité de programmer la fonction à minimiser. Il est classique et naturel d'utiliser un critère de moindres carrés « non linéaire » compte-tenu de la dépendance en fréquence des valeurs mesurées qui sont une fonction non-linéaire de la fréquence de mesure. Deux critères sont souvent programmés, le premier évaluant la variation absolue est donné par la relation suivante :

$$E_a = \sum_i (x_i^{exp} - x_i^{cal})^2 + (y_i^{exp} - y_i^{cal})^2 \quad (3.52)$$

Tandis que le second prenant en compte une sorte de variation relative est exprimé par la relation :

$$E_r = \frac{\sum_i (x_i^{exp} - x_i^{cal})^2 + (y_i^{exp} - y_i^{cal})^2}{\sum_i (x_i^{exp})^2 + (y_i^{exp})^2} \quad (3.53)$$

Il est apparu dans nos simulations numériques que le critère relatif a donné de meilleurs résultats que le critère absolu sur les données traitées.

L'utilisation de ces fonctions Matlab *fmincon* et *lsqnonlin* n'a pas posé de difficulté compte-tenu des aides disponibles en ligne et de l'expérience déjà acquise. Cependant, assez rapidement, nous avons observé un accord extrêmement variable entre les données mesurées et celles prédites par le modèle qui semble dépendre fortement des données expérimentales et ce indépendamment des paramètres numériques liés à l'identification. Cela ne nous a pas permis d'obtenir systématiquement des valeurs de paramètre réalistes. En effet, il est apparu qu'en fonction du point de départ de l'algorithme de minimisation, les valeurs trouvées des paramètres pouvaient ne pas être physiquement réalistes car la plage de fréquence mesurée s'étalait seulement entre 10 Hz et 1 MHz. Une plage de fréquences plus importante aurait permis de mieux identifier l'intégralité des systèmes de Cole relatifs aux mesures effectuées.

Il est à noter que la formulation primitive des équations de Cole ne semble pas se prêter facilement à l'identification paramétrique, c'est la raison pour laquelle un certain nombre d'articles de la littérature utilisent la formulation en capacité C , pour « linéariser » le comportement de la formulation Cole et déterminer plus aisément ces paramètres (*Extracting the parameters of the double-dispersion Cole bioimpedance model from magnitude response measurements*). Ceci nous a incité à approfondir l'étude bibliographique pour déterminer si ce problème avait déjà été rencontré. Il s'avère qu'en générant aléatoirement des points initiaux différents pour la méthode de minimisation il est possible d'accroître notablement la qualité du fit obtenu en prenant la valeur des paramètres correspondant alors au minimum des minimas obtenus [73] [74] [75] [76]. Pour ce faire, la distribution uniforme a été choisie pour obtenir des valeurs aléatoires uniformément réparties dans un intervalle donné grâce à la fonction Matlab *rand(1)* [77].

Il est à noter que ces points initiaux appartiennent toujours à un intervalle spécifié a priori qui correspond à une plage physiquement réaliste des paramètres de Cole.

Cette modification qui a donné de bons résultats sur un certain nombre de fichiers a parfois échoué. Ceci nous a permis de comprendre qu'il était nécessaire d'ajouter un traitement supplémentaire aux données expérimentales qui parfois avaient un profil très bruité. Pour ce faire, un algorithme original de type dichotomie consistant à sélectionner un ensemble contigu de points expérimentaux afin de minimiser l'erreur quadratique a permis d'obtenir une nette amélioration de la qualité du fit, en ce sens que les valeurs des paramètres trouvés étaient systématiquement réalistes et que le fit se superposait aux données expérimentales. Ceci a été observé sur les centaines de fichiers expérimentaux traités.

Le coût de calcul de l'algorithme proposé est proportionnel :

- 1- Au nombre de points de départ choisis aléatoirement (en pratique de l'ordre de 10^2)
- 2- Au nombre de points expérimentaux (en pratique de l'ordre de 150)
- 3- Des paramètres numériques liés aux méthodes de minimisation employées à savoir :
 - a- Le nombre d'appels de la fonction à minimiser (en pratique de l'ordre de 10^4)
 - b- La valeur numérique du critère de convergence retenu de l'ordre de 10^{-15} . Le choix du critère de convergence utilisé dans le programme est donné par l'équation (3.53).

Ceci explique qu'une identification de qualité nécessite un temps calcul de l'ordre de plusieurs minutes pour traiter un fichier.

Un certain nombre d'expérimentations numériques ont cependant été nécessaires pour déterminer le nombre optimal de points de départ choisis aléatoirement car il est à noter que tout algorithme de minimisation ne peut déterminer qu'un minimum local car très souvent la fonction à minimiser possède plusieurs minimums. C'est la raison pour laquelle en prenant le minimum de tous les minimums obtenus, on peut se rapprocher du minimum absolu qui existe nécessairement car la fonction à minimiser, i.e. le critère d'erreur quadratique, est positive, continue sur un compact (partie fermée et bornée) de $\mathbb{R}^4$.

Comme indiqué précédemment, un point très important dans l'exploitation des données expérimentales est de pouvoir lancer de manière automatique la recherche des paramètres sur un très grand nombre de fichiers sans intervention de l'utilisateur. Un script Matlab, lisant un fichier de paramètres contenant les noms des fichiers de mesures expérimentales à traiter, lance l'algorithme couplant aléatoire et dichotomie. A l'issue du traitement, tous les paramètres numériques sont consignés dans un fichier ASCII. Ce dernier contient, également, un récapitulatif des paramètres du modèle de Cole obtenus et sous forme de colonnes, les valeurs de résistance et de réactance mesurées et calculées en fonction de la fréquence, permettant ainsi un post traitement éventuel avec Excel.

Afin de faciliter l'analyse des nombreux résultats obtenus, des figures au format .png ont été systématiquement créées et nommées en fonction du nom du fichier de données traité. Par ailleurs, pour chaque répertoire contenant un ensemble de fichiers expérimentaux correspondant à une journée de mesure, un fichier de synthèse au format .txt pouvant être lu par Excel a aussi été généré. Celui-ci contient le nom du fichier de données expérimental traité mais aussi les valeurs des paramètres physiques obtenus par identification.

Il est à noter que seule la recherche des paramètres du simple Cole a nécessité l'utilisation de la double méthode aléatoire/dichotomie. Dans le cas du double Cole, il a été constaté que la méthode aléatoire seule permettait d'obtenir un excellent accord entre les données mesurées et celles fittées. Ceci peut s'expliquer par la qualité des données mesurées.

La mise au point de la bibliothèque Matlab s'est étalée sur cinq mois environ compte-tenu notamment, des aller et retours entre l'étude bibliographique, l'écriture des fonctions Matlab mais surtout la mise au point de l'algorithme dichotomique sans lequel les résultats obtenus étaient peu précis. La Figure 44 présente de manière schématique la procédure algorithmique qui a été programmée dans la bibliothèque *zfit*. L'identification des quatre paramètres est obtenue grâce à l'appel à *lsqnonlin* ou *fmincon* représentée en rouge et dont le choix est laissé à l'utilisateur. Il est à noter que la fonction *lsqnonlin* a donné de meilleurs résultats que *fmincon* pour nos jeux de données.

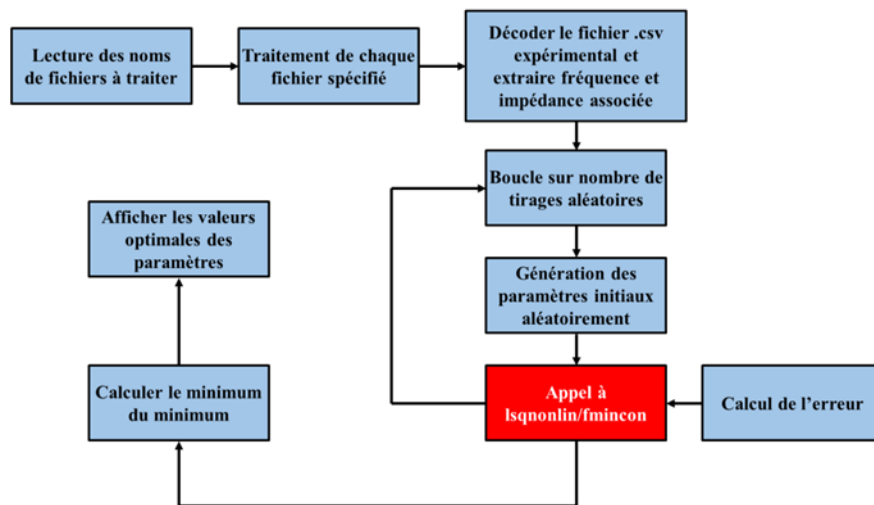


Figure 44 : Algorithme du programme Matlab permettant l'extraction des paramètres du système simple Cole à l'aide d'un algorithme dichotomique couplé à une génération aléatoire des paramètres initiaux.

La Figure 45 représente l'évolution de la partie réelle et imaginaire de l'impédance complexe, respectivement la résistance et l'opposé de la réactance en fonction de la fréquence mesurée. Dans ce cas, l'équation d'un simple Cole est utilisée. On constate qu'un accord notablement satisfaisant entre les données expérimentales et celles simulées sur une plage de deux décades en fréquence. Cependant pour les très basses (inférieures à 100 Hz) et très hautes fréquences (supérieures à 1 MHz), le désaccord a été expliqué plus haut.

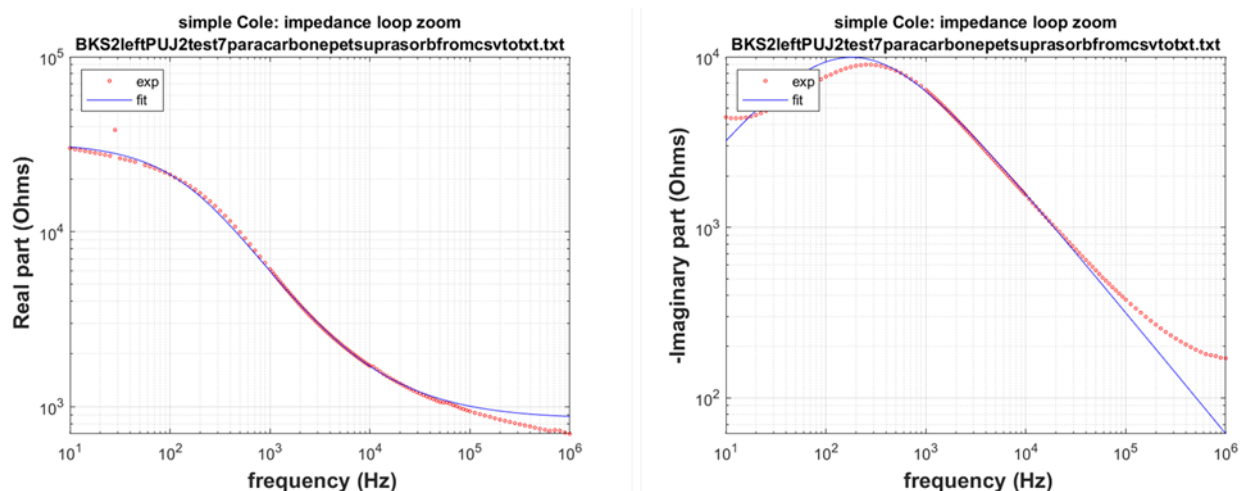


Figure 45 : Évolution de la partie réelle (Graphe de gauche) et de la partie imaginaire (Graphe de droite) de l'impédance de tissu mesurée en fonction de la fréquence. Les cercles rouges correspondent aux données expérimentales tandis que les courbes bleues au fit.

La Figure 46 montre un excellent accord entre l'expérience et la simulation pour les lieux d'impédance.

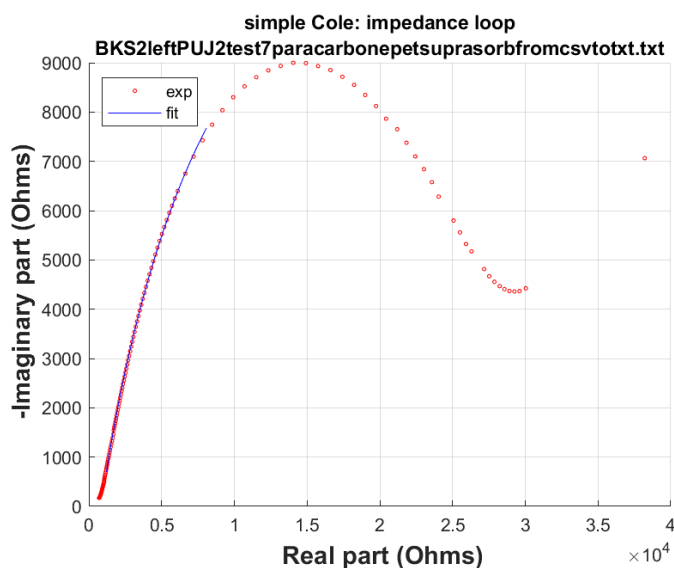


Figure 46 : Lieu d'impédance pour les mêmes mesures expérimentales que celles de la figure 49. Les cercles rouges correspondent aux données expérimentales. Le trait bleu continu correspond aux données fittées.

Ceci montre que les résultats d'identification sont fortement dépendant de la qualité des données mesurées.

Nous pouvons confronter les deux méthodes de fit : celle avec le logiciel OriginPro® et celle avec le script Matlab associé à la bibliothèque **zfit**. Prenons l'exemple de la souris hyperglycémique 2 au deuxième jour de l'escarre du flanc gauche.

Tableau 7

Souris 2 gauche	α	R_0 (Ω)	R_∞ (Ω)	$C(f)$
OriginPro®	0,74	29246	943	$1,65 \times 10^{-7}$
Matlab	0,71	32552	849	$2,1 \times 10^{-7}$
Erreur relative	4 %	11,3 %	9,9 %	27 %

En calculant l'erreur relative globale entre celle obtenue par zfit et celle obtenue par OriginPro® par une moyenne géométrique, il apparaît que celle-ci est d'environ 10 %. Toutes les identifications paramétriques ont été obtenues avec la bibliothèque zfit car elle permet d'exporter de manière automatique au format.

L'erreur relative pour les paramètres α , R_0 et R_∞ est globalement satisfaisante. L'erreur est plus importante pour la détermination de la valeur de l'élément à phase constante. Cette différence peut provenir de la sélection de l'intervalle de points par l'algorithme.

Les propriétés électriques du *stratum corneum* et de la peau saine sous-jacente ont été étudiées pour la première fois par Yamamoto et al. dans leurs travaux de 1976 [49]. Ils ont caractérisé l'impédance de la peau de l'avant-bras côté ventre avec un système à deux électrodes. Ces dernières sont de type Argent/Chlorure d'argent. Elles sont remplies de gel à 18 % de chlorure de sodium. Les mesures ont été effectuées 30 minutes après avoir posé les électrodes sur la peau. La peau a été arrachée avec du scotch en cellulose 15 fois. Le but de cette étape est de retirer le *stratum corneum*. Ils ont également mesuré l'impédance de chaque couche retirée. Ceci leur a permis de caractériser électriquement la couche cornée. Une importante découverte de Yamamoto et al. est que l'impédance des différentes couches retirées du *stratum corneum* ne produit pas un arc de cercle Cole-Cole. En revanche, l'impédance de la peau restante après ces différentes étapes produit un arc de cercle Cole-Cole. Ainsi, la caractérisation électrique dans le volume de la peau est dépendant de la fréquence.

L'impédance de la peau est dominée par l'impédance de la couche cornée aux basses fréquences, inférieures à 10 kHz [51]. Cette contribution tend à diminuer avec l'augmentation de la fréquence de caractérisation. En effet, Martinsen *et al.* [52] ont montré, à travers une simulation par éléments finis sur un système à deux électrodes concentriques utilisé par Yamamoto *et al.* dans leurs travaux (1986), [78] que la couche cornée de la peau représentait près de 50 % de l'impédance totale mesurée à 10 kHz puis diminuait avec la fréquence, pour n'atteindre, finalement, plus que 10 % à 100 kHz. Comme évoqué dans le Chapitre 1, dans la partie Diffusion d'actifs dans la peau, l'épaisseur du *stratum corneum* varie énormément en fonction de la zone du corps considérée : de 10 μm à 1 mm pour la voute plantaire. Cette couche cornée peut être considérée comme un électrolyte solide avec supposément des ions qui peuvent se mouvoir et contribuer à la conductibilité DC [11]. La conductibilité AC provient plus des lipides et des protéines qui peuvent être très chargés. Ainsi, le paramètre R_0 , correspondant à la résistance basses fréquences du modèle de Cole, permettrait de caractériser l'état d'intégrité du *stratum corneum*. Le paramètre R_∞ , résistance hautes fréquences, indiquerait l'intégrité des couches plus profondes de la peau.

Le paramètre α est sans dimension et est compris entre 0 et 1 pour des tissus biologiques [79]. Pour une peau saine, cette valeur est de l'ordre de 0,8 [80]. En outre, lorsque ce paramètre est égal à 1, l'élément à phase constante (CPE) se comporte comme un condensateur. Ainsi, la diminution de ce paramètre pourrait indiquer une perte d'intégrité des membranes cellulaires [47]. Les variations du paramètre C reflètent l'hétérogénéité de la peau à travers la distribution des constantes de temps [81].

Afin de mener correctement notre analyse prédictive sur l'état de cicatrisation de l'ulcère de pression, une première mesure sur chacune des souris la veille de la réalisation de l'escarre noté Jour 1 et une autre le jour de sa réalisation noté Jour 2 ont été effectuées. Ainsi pour un nombre d'échantillons égal à 5, cela nous donne un total de 10 mesures par jour.

Pour chacune des mesures, grâce à la méthode présentée à la Figure 41, les paramètres R_0 , R_∞ , C et α du modèle de Cole ont été extraits des diagrammes de Nyquist avec OriginPro. Ces données sont regroupées dans les graphes et tableaux suivants.

La moyenne est calculée sur les 10 mesures et l'erreur type de la moyenne (S.E.M) est fournie par la formule suivante :

$$S.E.M = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad (3.62)$$

Avec σ l'écart type et n le nombre d'échantillons.

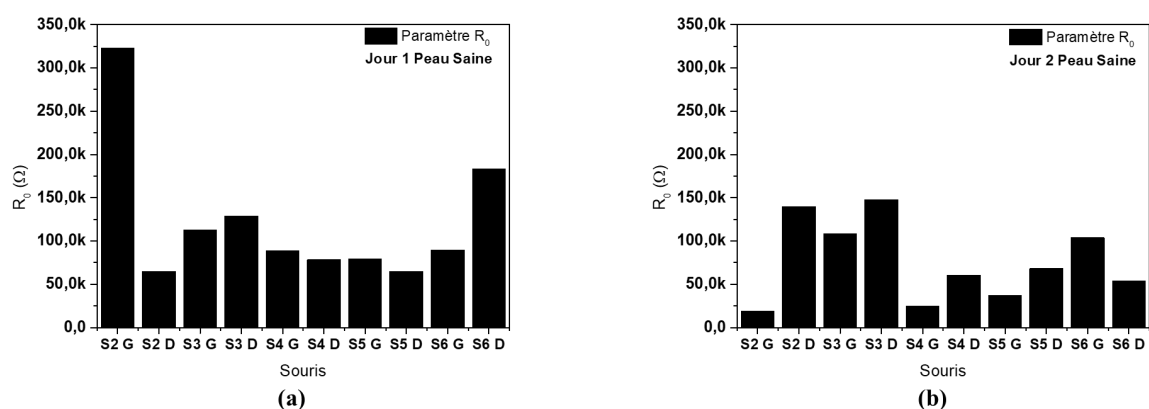


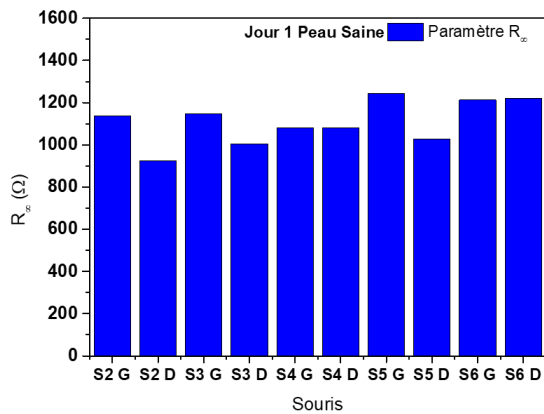
Figure 47 : Paramètre R_0 sur peau saine pour chaque souris hyperglycémique (a) Jour 1 (b) Jour 2

Tableau 8

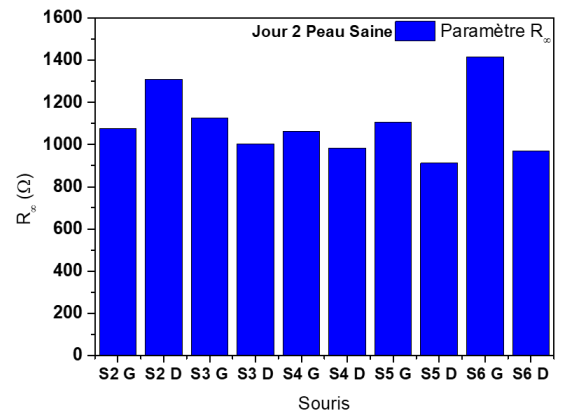
Jour	Paramètre	Valeur moyenne	Erreur type de la moyenne
Jour 1	R_0 (Ω)	121382,4162	25080,92172
Jour 2	R_0 (Ω)	76276,95841	14588,02042

Ce paramètre présente une certaine variabilité entre les différents animaux. En effet, ce paramètre de fit est intrinsèquement lié aux basses fréquences et reflètent donc l'état de surface de la peau et le milieu extracellulaire. En outre, l'erreur type de la moyenne plus importante au Jour 1 qu'au Jour 2 pourrait être due au rasage, la peau ayant eu une journée supplémentaire pour cicatriser.

La valeur de R_0 pour la souris 2 du côté gauche (S2G sur la Figure 47) est de 322874 Ω au Jour 1 et de 18799 Ω au Jour 2. Pour la suite de notre étude, le côté gauche de cette souris sera exclu.



(a)



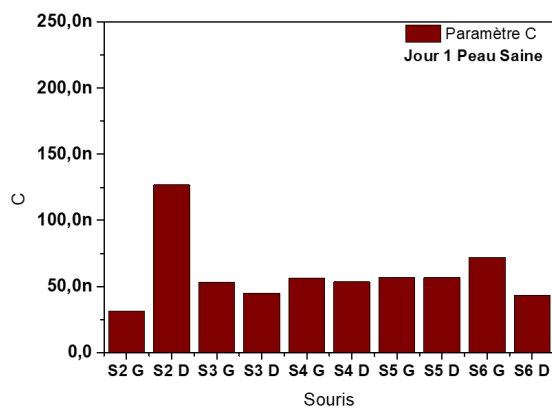
(b)

Figure 48 : Paramètre R_{∞} sur peau saine pour chaque souris hyperglycémique (a) Jour 1 (b) Jour 2

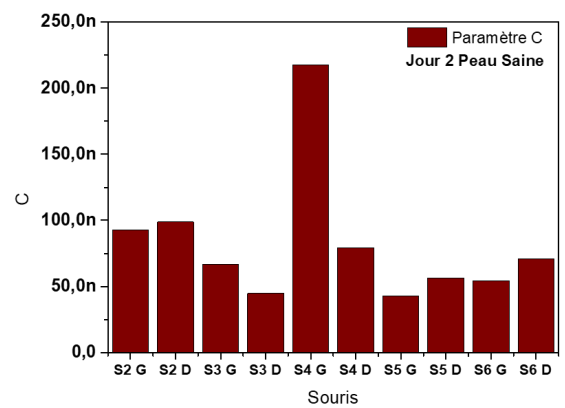
Tableau 9

Jour	Paramètre	Valeur moyenne	Erreur type de la moyenne
Jour 1	R_{∞} (Ω)	1108,08421	32,85252
Jour 2	R_{∞} (Ω)	1096,96703	49,67348

Ce paramètre varie moins que le paramètre précédent. En effet, le paramètre R_{∞} est déterminé par intersection de l'arc de cercle en haute fréquence et permet de caractériser du volume entier et les tissus profonds et varie donc assez peu pour une peau saine.



(a)



(b)

Figure 49 : Paramètre C sur peau saine pour chaque souris hyperglycémique (a) Jour 1 (b) Jour 2

Tableau 10

Jour	Paramètre	Valeur moyenne	Erreur type de la moyenne
Jour 1	C	5,95148E-8	8,20337E-9
Jour 2	C	8,24524E-8	1,61357E-8

Le paramètre C correspondant à l'élément à phase constante permet de décrire les propriétés des membranes cellulaires des tissus ainsi que la permittivité des tissus biologiques. Ce paramètre pour la souris 4 sur son flanc gauche varie énormément entre le Jour 1 et le Jour 2. Ce flanc sera, donc, exclu de notre étude.

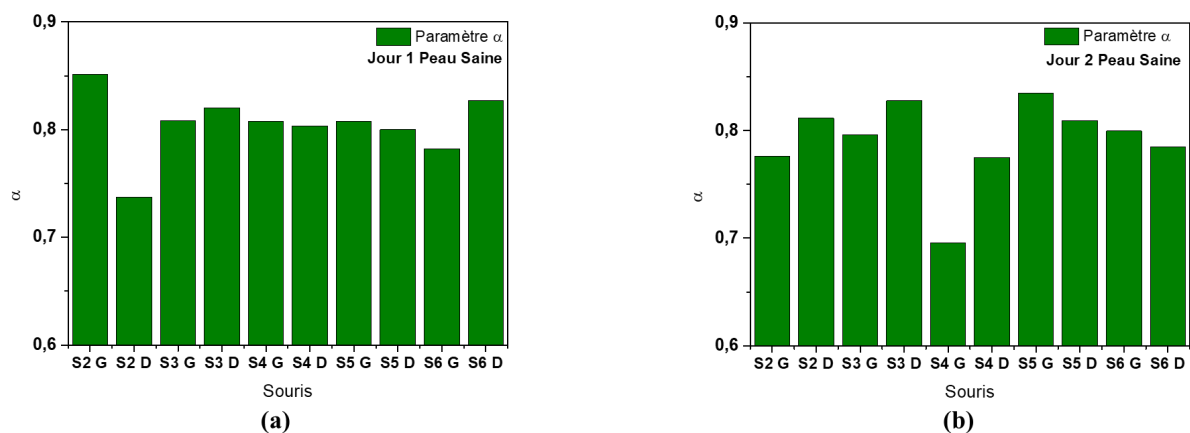


Figure 50 : Variation entre souris du paramètre α sur peau saine pour chaque souris hyperglycémique (a) Jour 1 (b) Jour 2

Tableau 11

Jour	Paramètre	Valeur moyenne	Erreur type de la moyenne
Jour 1	α	0,80446	0,00944
Jour 2	α	0,79122	0,01235

Ce paramètre caractérisant le tissu présente l'avantage de ne pas être dépendant de la géométrie du tissu si le volume de ce dernier est constant et ne dépend pas de la fréquence. La grandeur α est une constante caractérisant le matériau tout comme la permittivité ϵ . Ce paramètre sans dimension tient compte des imperfections des membranes cellulaires à se comporter comme des condensateurs parfaits. Le paramètre α est toujours positif et inférieur ou égal à 1. Si le paramètre α vaut 0 alors la membrane doit être une résistance parfaite sinon s'il vaut 1 alors la membrane est un condensateur parfait. La valeur de 0,8 typique pour une peau saine se retrouve aux deux jours dans le Tableau 11.

Afin d'observer l'effet des trois cycles d'ischémie-reperfusion sur les tissus, des mesures de bioimpédance ont été faites juste après l'induction de l'ulcère de pression, une heure et trois heures après.

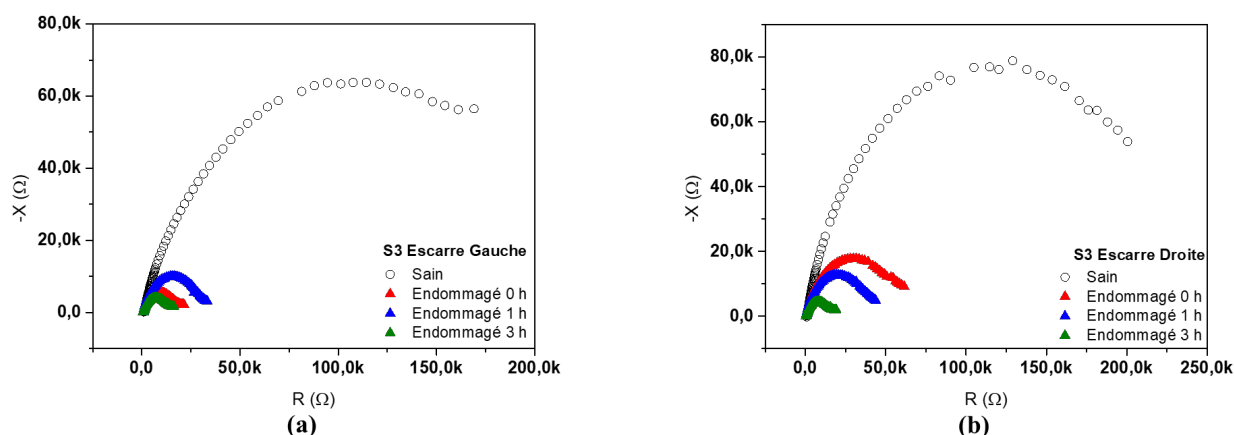


Figure 51 : Diagramme de Nyquist des mesures de bioimpédance pour la souris 3 hyperglycémique. Comparaison entre une peau saine (Sain) et des tissus endommagés à 0 h, 1 h, et 3 h pour la plaie du flanc gauche (a) et du flanc droit (b)

Sur la Figure 51, l'impédance diminue fortement après les trois cycles d'ischémie. La réactance diminue indiquant une perte d'intégrité cellulaire. Cette tendance se retrouve sur les deux flancs de la souris 3.

Les résultats des fits avec le système de Cole pour le côté gauche de la souris 4 sont répertoriés dans le Tableau 12.

Tableau 12

S3G	R_0 (Ω)	R_∞ (Ω)	C	α
Sain	108096,45253	1127,69114	6,67235E-08	0,79641
Endommagé 0 h	15808,17	881,145	1,06E-07	0,7869189
Endommagé 1 h	27208,26	918,127	7,76E-08	0,8010199
Endommagé 3 h	12016,84	813,1499	1,20E-07	0,7783286
S3D	R_0 (Ω)	R_∞ (Ω)	C	α
Sain	147592,8617	1004,07803	4,47E-08	0,8279
Endommagé 0 h	41948,94	708,9922	1,02173E-7	0,78448
Endommagé 1 h	31995,87	679,6076	8,33678E-8	0,80555
Endommagé 3 h	13181,18	614,7748	1,10575E-7	0,77408

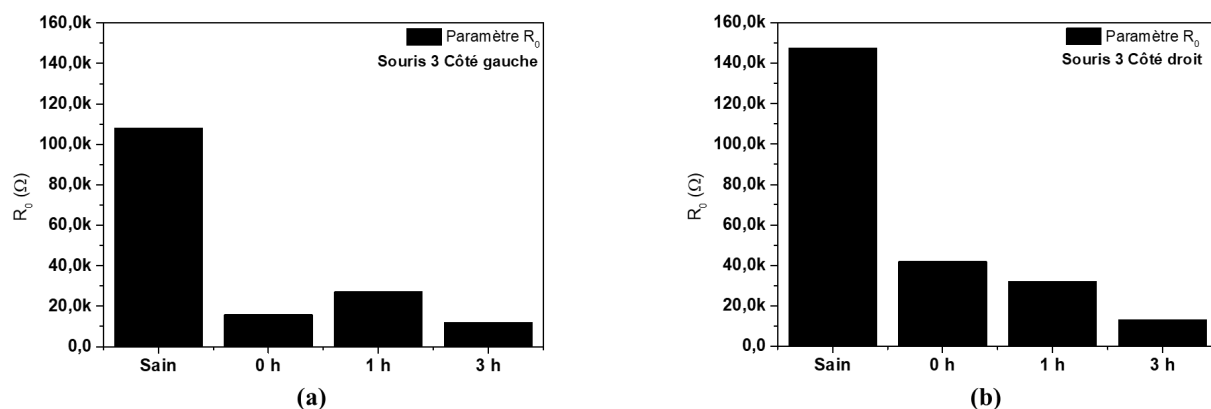


Figure 52 : Variation du paramètre R_0 entre tissu sain et tissu endommagé juste après la réalisation de l'ulcère de pression, après 1 h et après 3h pour la Souris 3 : (a) Côté gauche (b) Côté droit

Le paramètre R_0 du modèle Cole, caractéristique des basses fréquences, diminue passant de quelques centaines de milliers d'ohms à une vingtaine de milliers. Cela pourrait signifier que le milieu extracellulaire devient plus conducteur. En effet, les contraintes mécaniques provoquent un éclatement des membranes cellulaires.

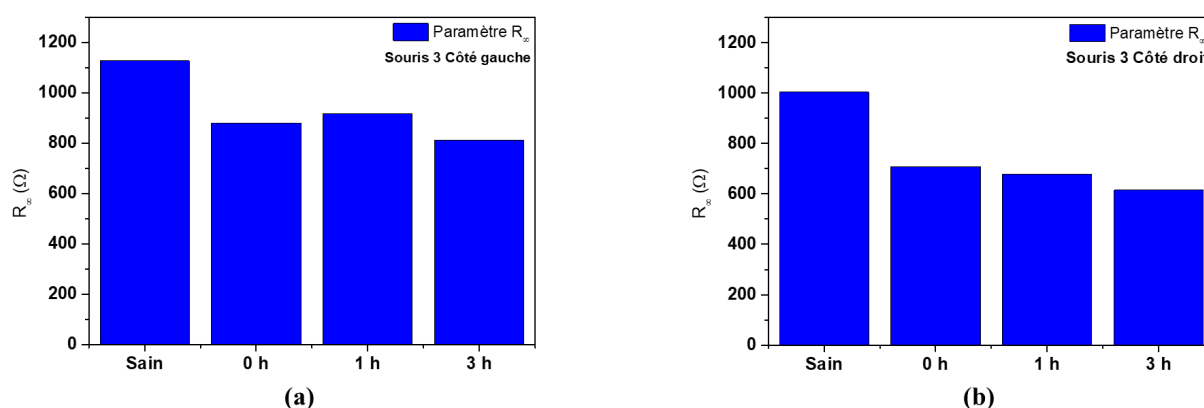
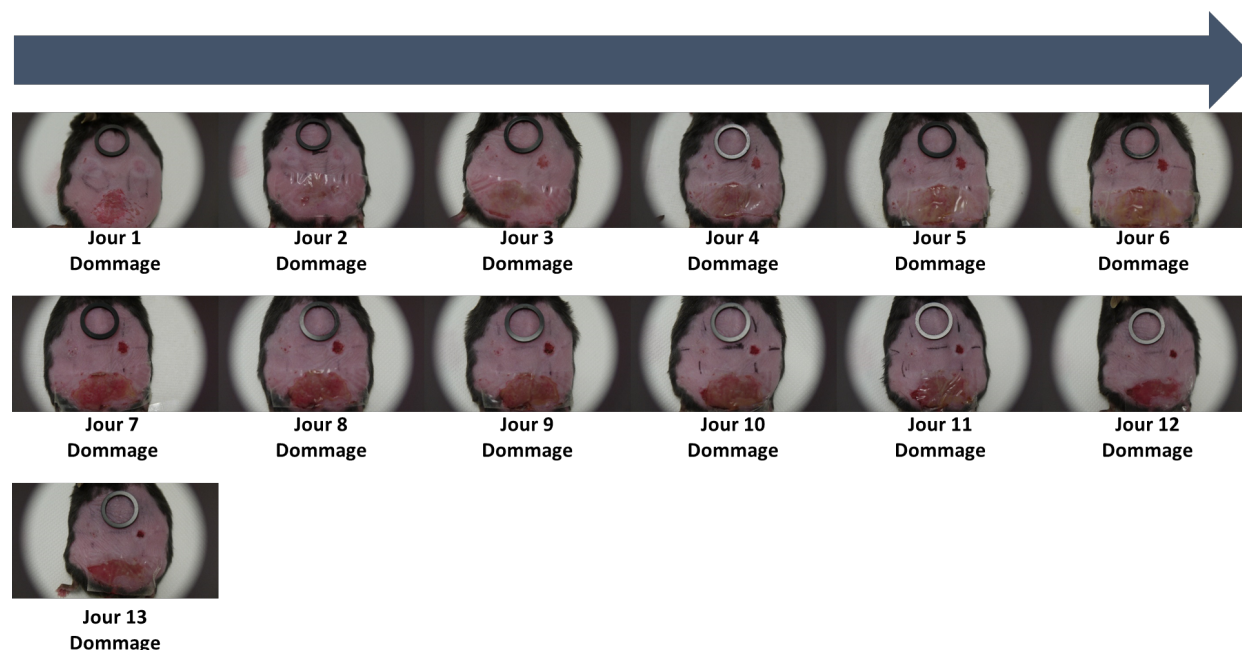


Figure 53 : Variation du paramètre R_∞ entre tissu sain et tissu endommagé juste après la réalisation de l'ulcère de pression, après 1 h et après 3h pour la Souris 3 : (a) Côté gauche (b) Côté droit

Le paramètre R_∞ suit aussi cette tendance comme le montre la Figure 53. Ce paramètre est caractéristique des hautes fréquences. L'escarre est aussi observable dans le volume entier du tissu et commencerait à se développer dans les tissus plus profonds.

Pour l'analyse de la cicatrisation sur souris hyperglycémiques, les animaux S2, S5 et S6 ont été sélectionnés. Ceux sont ces derniers qui présentent une plaie de pression entourée de peau saine sur une surface assez grande pour pouvoir y déposer nos électrodes flexibles sans qu'une griffure ou tout autre petite plaie ne viennent perturber la mesure d'impédance.

La Figure 54 regroupe les photographies du dos de la souris 2 à partir du lendemain de la création de l'escarre (Jour 1 dommage) jusqu'au Jour 13 (Jour 13 Dommage).



1

Figure 54 : Photographies montrant l'évolution des plaies ischémiques au niveau du dos de la souris 2 sur 13 jours.

Les données d'impédance du côté droit de cette souris ont été analysées et fittées avec le modèle de Cole. Les paramètres de ce modèle seront analysés sur cette période.

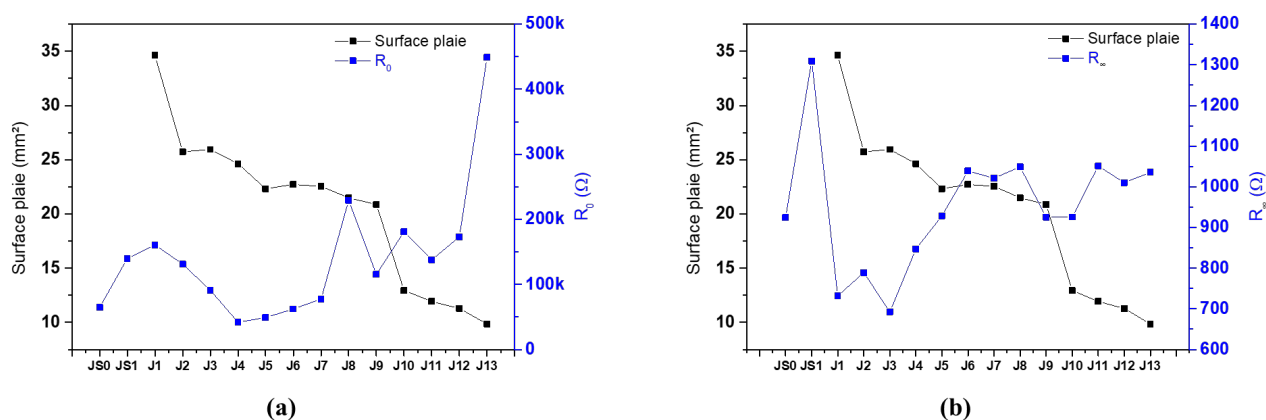


Figure 55 : Évolution de la résistance basse fréquence R_0 (a) et de la résistance haute fréquence R_∞ (b) du modèle de Cole obtenue à partir du fit des données de bioimpédance du flanc droit de la souris 2. Cette évolution est mise en regard avec la surface de l'escarre.

Sur la Figure 55, la résistance basse fréquence R_0 chute entre J1 et J4. Ceci pourrait provenir de dommages cellulaires provoqués par la pression exercée lors des cycles d'ischémie reperfusion. La peau devient plus conductrice. La différence observable entre JS0 (Premier Jour Sain sans escarre) et JS1 (Deuxième Jour Sain sans escarre) pourrait provenir de la cicatrisation d'une plaie présente à JS0. A partir de J4, la valeur augmente, le processus de cicatrisation s'enclenche et l'ulcère de pression migrerait donc vers l'épiderme. Des oscillations apparaissent au jour 8. Ce phénomène pourrait être lié à la non-uniformisation de la remontée de l'escarre.

A partir du Jour 13 (J13), R_0 est supérieure à la valeur des jours sains. En effet, la surface de l'escarre décroît. La contribution de la peau saine augmente dans la mesure d'impédance.

En outre, sur la Figure 55, la résistance des hautes fréquences R_∞ chute au Jour 1, le lendemain de la création de l'escarre. Cela semblerait indiquer que la peau s'est dégradée dans ses couches les plus profondes, c'est-à-dire dans le volume. Ces zones deviennent plus conductrices. Ensuite, la valeur de cette résistance oscille entre Jour 1 et Jour 3 avec l'ulcère de pression autour de 700 Ω . Ceci pourrait être provoqué par la non-uniformisation du développement de cette plaie en profondeur. Le processus de cicatrisation s'initie entre le Jour 3 et 4, la valeur de R_∞ s'accroissant jusqu'à un palier atteint au Jour 6.

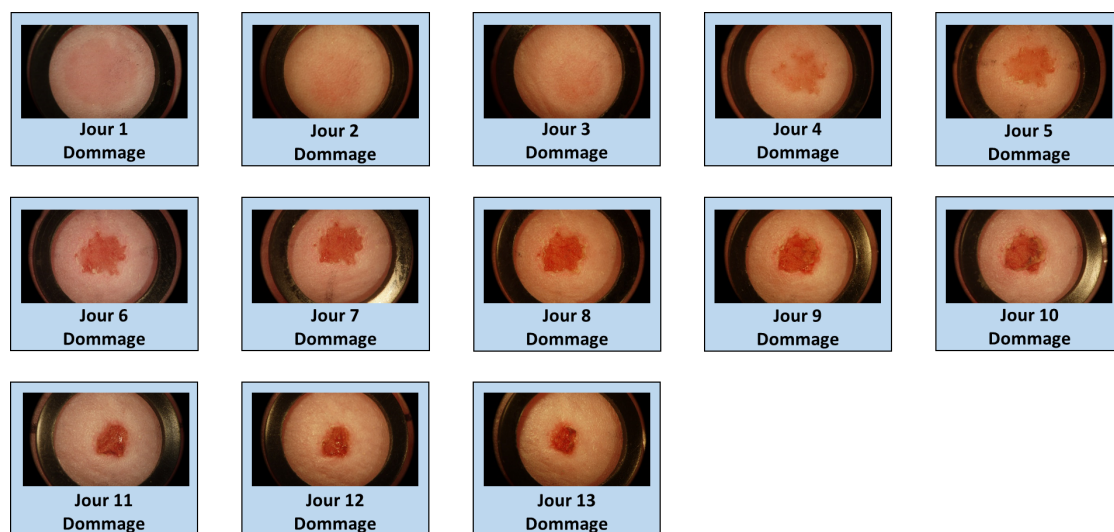


Figure 56 : Évolution de la plaie ischémique droite de la souris 2 sur 13 jours

Aux jours 1 et 2, on note l'apparition d'une rougeur à la surface de la peau. Au jour 4, l'ulcère de pression commence à apparaître en surface de la peau, au niveau de l'épiderme. Une plaie commence à se développer. Sa surface diminue à partir du Jour 9.

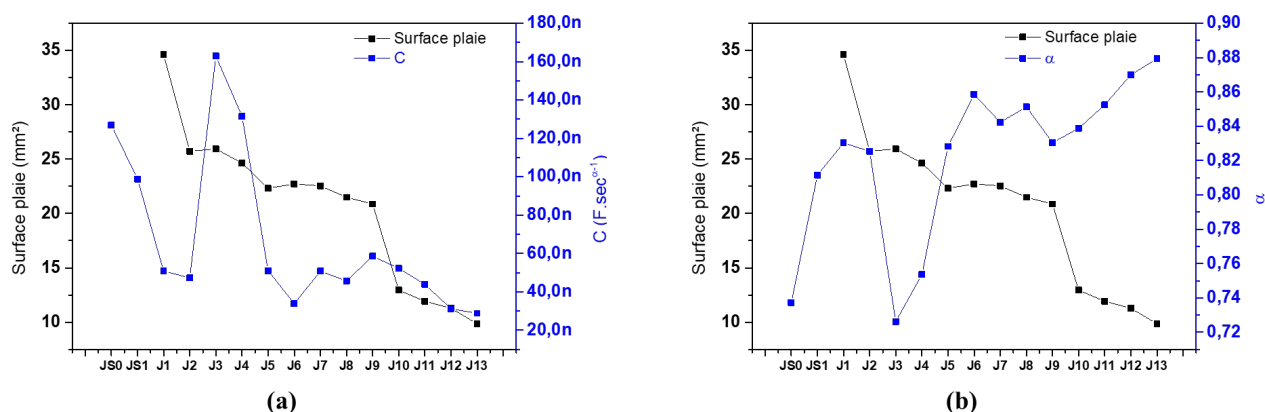


Figure 57 : Le graphe (a) montre l'évolution du paramètre C du système Cole pendant la phase cicatricielle et le graphe (b) l'évolution du paramètre adimensionnel α .

Les variations du paramètre C , élément à phase constante, traduisent un changement dans les propriétés des membranes cellulaires des tissus. En outre, les changements peuvent aussi être liés à la permittivité du tissu biologique. La variation entre JS0 et JS1 serait due à la cicatrisation d'une plaie présente à JS0. L'augmentation dans la valeur de cette capacité à Jour 1 (J1) semblerait être liée à la compression mécanique des tissus, l'épaisseur de ces derniers diminuant. Au jour 5 (J5) la valeur chute ; la plaie apparaît en surface.

La paramètre sans dimension α traduit la cohésion cellulaire. Cet élément du modèle de Cole chute au Jour 3 (J3). Cette chute proviendrait des contraintes mécaniques soumises à la peau lors de la création de l'escarre. Par la suite, sa valeur croît pour tendre vers 1. Cette valeur correspond à une peau saine. La surface de la plaie diminue.

Parmi les animaux sélectionnés, nous avons aussi mené une analyse similaire pour la plaie du côté gauche de l'animal.

La Figure 58 regroupe les photographies du dos de la souris 5 à partir du lendemain de la création de l'escarre (Jour 1 dommage) jusqu'au Jour 13 (Jour 13 Dommage).

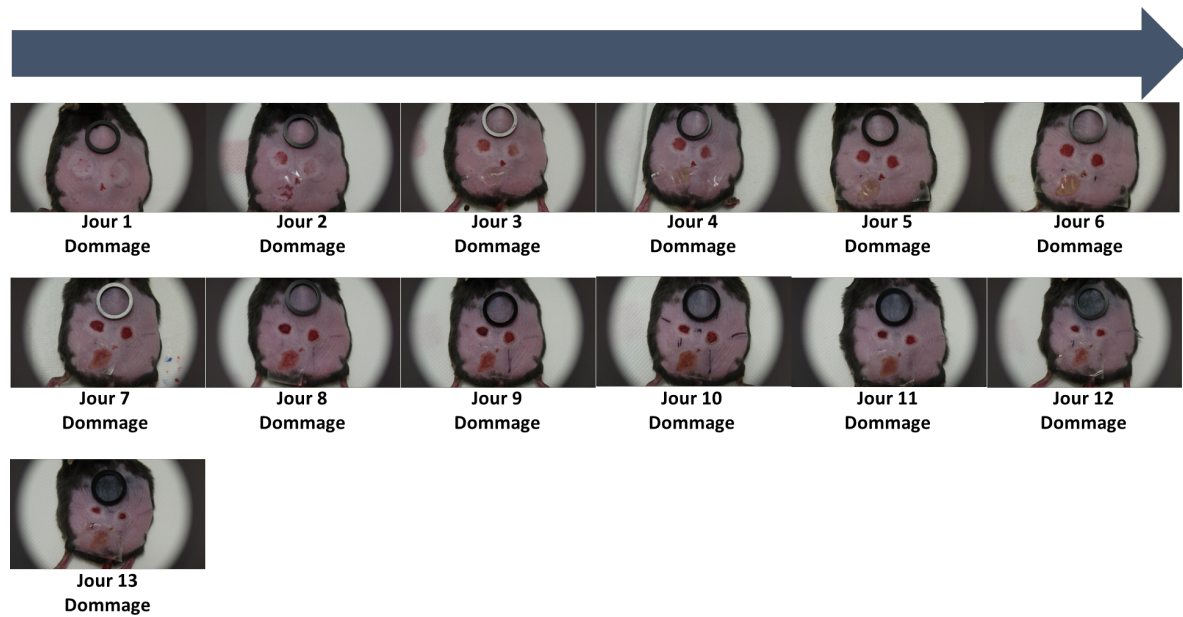


Figure 58 : Photographies montrant l'évolution des plaies ischémiques au niveau du dos de la souris 5 sur 13 jours.

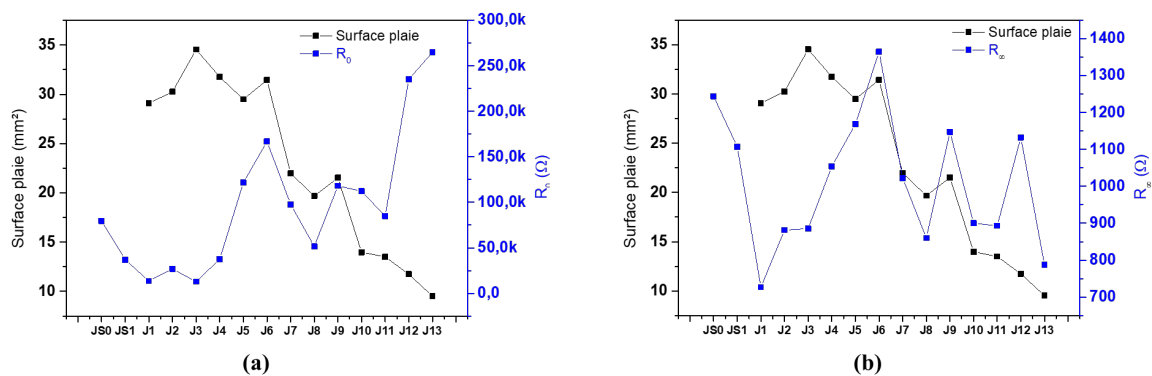


Figure 59 : Évolution des deux résistances basses fréquences R_0 (graphe (a)) et hautes fréquences R_∞ (graphe (b)) du modèle de Cole pour le côté gauche de la souris 5.

Sur la Figure 59, les deux valeurs initiales du paramètre R_0 et R_∞ au Jour Sain 0 (JS0) et 1 (JS1) sont différentes. Comme nous l'avons précédemment évoqué, cela peut être dû à une plaie cicatrisante présente à Jour Sain 0 (JS0).

En outre, la valeur de R_0 diminue au lendemain de la création de l'ulcère de pression (J1) et oscille autour de cette valeur jusqu'au Jour 4 (J4). Comme évoqué pour la plaie gauche de la souris 2, cette chute pourrait être provoquée par des dommages cellulaires dans les tissus de la peau. Cette dernière devient plus conductrice. A partir du Jour 4 (J4), la valeur de R_0 augmente jusqu'au Jour 6 (J6). Le processus s'enclencherait durant cet intervalle de temps, l'escarre migrant dans l'épiderme. De plus, les oscillations apparaissant par la suite pourraient être liées à la non-uniformisation de cette remontée de l'ulcère de pression. Enfin, au Jour 11, on remarque un pic, la valeur passant d'une centaine de kilo ohms à plus de deux cents kilo ohms.

Ceci proviendrait de la diminution de la surface de la plaie, la surface de peau saine s'accroissant alors.

Afin de valider les tendances observées précédemment dans l'analyse de variation des paramètres de Cole lors de la cicatrisation d'escarre sur souris diabétiques, une moyenne a été calculée pour les paramètres R_0 , R_∞ , α et C sur 8 plaies pour deux jours sains et sur sept jours après induction de l'ulcère de pression.

La Figure 60 présente l'évolution des deux résistances du modèle Cole-Cole basses et hautes fréquences moyennées sur 8 plaies.

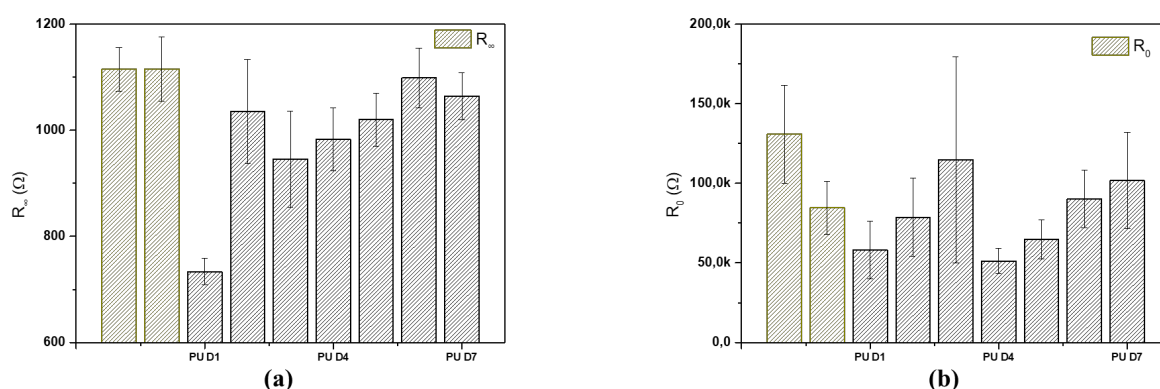


Figure 60 : Variations des moyennes des paramètres R_0 et R_∞ pour 8 plaies sur 4 souris diabétiques au cours de 2 jours sains (barre verte) et 7 jours suivant l'induction de l'escarre

Il a fallu exclure un animal de l'étude car il présentait des plaies sur son partie dorsale trop proches du site de la mesure. La Figure 61 montre l'évolution du dos de l'animal le lendemain de l'induction de l'ulcère de pression (Jour 1) puis à différentes dates (Jour 4, 8 et 13).

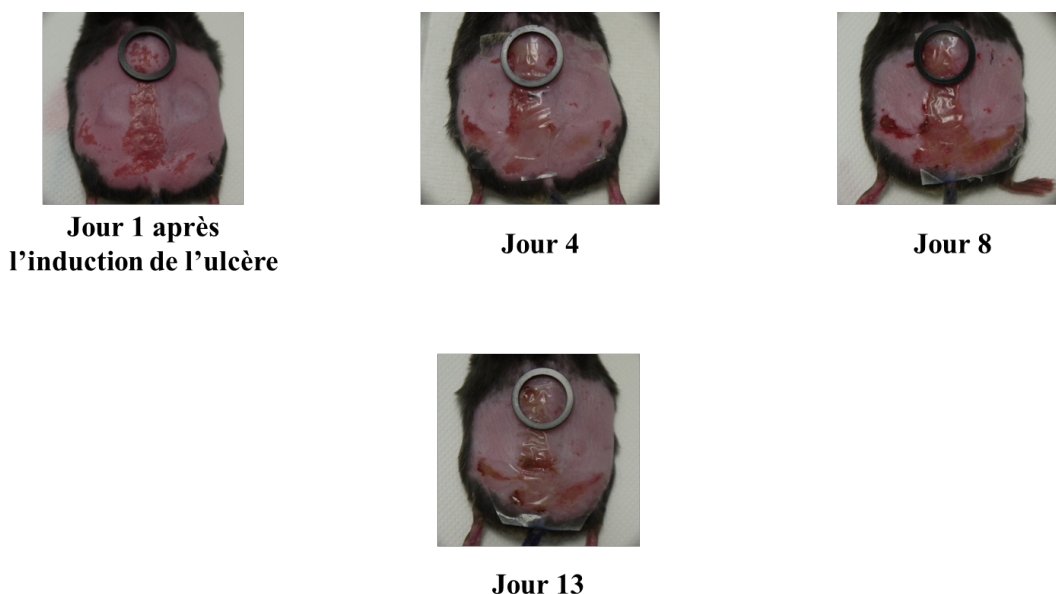


Figure 61 : Suivi photographique montrant l'état du dos de la souris diabétique exclue de l'étude le lendemain de l'induction de l'escarre de pression (Jour1) puis au Jour 4, 8 et 13

Ces différentes plaies peuvent venir perturber la caractérisation de l'escarre induit.

Le paramètre R_∞ est stable les deux jours précédents la réalisation de l'ulcère de pression. Cela montre une intégrité des couches de la peau dans le volume. Il y a une variation de la résistance basses fréquences entre ces deux jours. Cette variation pourrait indiquer une irritation au niveau de la couche cornée ou de l'épiderme. Les animaux ont été rasés 48 h avant de réaliser les mesures électriques. Cette étape pourrait être à l'origine de ces variations.

Deux chutes des paramètres R_0 et R_∞ sont ensuite observées au Jour PU D1 qui correspond au lendemain de l'induction de l'escarre. Cette variation pourrait indiquer un changement structural de la peau. La compression aurait provoqué des lésions en surface mais aussi plus en profondeur. Ceci indique tout d'abord que la mesure bipolaire d'impédance permet de détecter des lésions sous-cutanées profondes qui ne seraient pas encore visibles. Ensuite, cette chute brutale des deux résistances pourrait refléter la fin de la première phase de la cicatrisation : l'inflammation. En outre, cette observation peut faire écho à celle des mesures de bioimpédance réalisées tout de suite après la réalisation de l'escarre, 1h et 3h après. Les *loci* d'impédance de la Figure 51 met en évidence une baisse du paramètre R_0 .

La résistance basses fréquences R_0 augmente progressivement jusqu'au Jour PU D3 en atteignant un maximum ce qui pourrait indiquer la migration de l'escarre au niveau de l'épiderme et du *stratum corneum*. Le paramètre R_∞ augmente d'ailleurs dès le Jour PU D2.

Entre le Jour PU D2 et D3, la valeur de R_∞ diminue de nouveau avant de croître. Ce phénomène couplé à la diminution au Jour PU D4 de R_0 pourraient indiquer la fin de la phase d'inflammation et le début de la phase de prolifération. Au cours de cette dernière, le tissu de granulation se forme et la plaie se réépithélialise consécutivement.

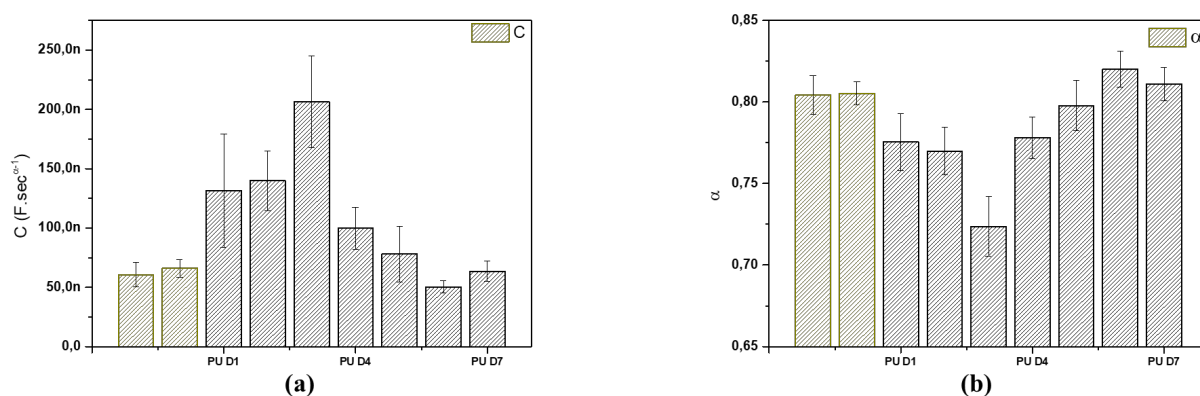


Figure 62 : Variations des moyennes des paramètres C et α du modèle de Cole pour 8 plaies sur 4 souris diabétiques. Les 2 jours de mesure sur peau saine sont représentés par les barres vertes ; le suivi de cicatrisation débute le lendemain de l'induction de l'ulcère de pression (PU D1)

Pour les deux mesures sur peau saine (barres vertes Figure 62), le paramètre α gravite autour de 0,8, valeur typique des tissus sains. Ce paramètre permet de caractériser l'état cellulaire des tissus. Il indique l'hétérogénéité de la taille des cellules et la morphologie des tissus [82].

Les trois jours suivants l'induction de l'ulcère de pression, la grandeur α diminue qui indiquerait une hétérogénéité dans la taille des cellules. Le Jour PU D3 est marqué par un minimum pouvant indiquer une discontinuité morphologique dans les tissus de la peau.

Le paramètre C du modèle de Cole est lié à la capacité moyenne des membranes des cellules. Cette grandeur augmente au Jour PU D1 et atteint un maximum au Jour PU D3. Deux hypothèses peuvent être émises pour expliquer cette tendance.

Tout d'abord, il pourrait s'agir d'une prolifération cellulaire caractéristique de la phase d'inflammation. Le maximum traduirait le chevauchement de l'inflammation et de remodelage. La valeur du paramètre C diminue puis se stabilise autour de la valeur de tissu sain au septième jour.

Ensuite, ces oscillations de ce paramètre le lendemain de l'induction de l'escarre et sur les 7 jours suivants pourrait traduire une hétérogénéité au niveau tissulaire créé par l'ulcère de pression.

4. Conclusion et perspectives

La spectroscopie de bioimpédance est une technique fiable, non-invasive et robuste de détection de dommages cutanés induits par une pression excessive.

Un modèle *in vitro* a tout d'abord été développé sur peau d'oreille de cochon excisée. L'application d'une pression à l'aide d'un dynamomètre pendant un temps donné provoque des dommages qui se traduisent par une baisse du module de l'impédance et une augmentation de la phase associée. La mesure a été réalisée grâce à des électrodes bipolaires flexibles sérigraphiées.

En outre, grâce aux données récoltées au cours de ces manipulations *in vitro*, un premier modèle électrique basé sur l'association de plusieurs systèmes Cole a été développé.

Ensuite, afin de pousser plus avant cette première étude, des expérimentations *in vivo* sur souris ont été effectuées en partenariat avec l'INSERM de Grenoble. Comme évoqué précédemment, une diminution nette du module et une augmentation de la phase de l'impédance mesurée sur un modèle de souris saine et hyperglycémique. Ces changements dans les propriétés électriques de la peau ont été observés quelques heures après l'induction de l'ulcère de pression avant même que ce dernier ne commence à se développer et donc ne soit visible ou facilement identifiable à l'œil nu.

Les données quotidiennes d'impédance associées à l'extraction automatique, grâce à un script Matlab, des paramètres physiques du modèle de Cole semble particulièrement prometteur en terme résolution et de robustesse de suivi de cicatrisation au moins sur les cinq premiers jours suivants l'induction. Cependant, pour les jours suivants, notre solution d'électrodes bipolaire se retrouve limiter en matière de résolution, notamment parce que la plaie diminue en surface. La contribution de la plaie étant inférieure à celle de la peau saine, la distinction devient impossible. Un système flexible d'électrodes avec un minimum de 6 pôles semblerait être plus indiqué. Un design a d'ailleurs été développé dans ce sens.

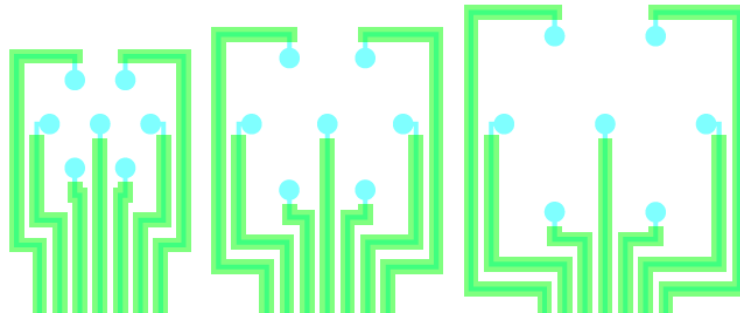


Figure 63 : Design sous forme de matrice d'électrodes

Une future étude devra être menée pour montrer la viabilité de cette solution. Le but de ces électrodes est d'avoir une caractérisation électrique complète des tissus de la plaie à 360 °.

Le substrat flexible utilisé au cours de nos expériences est constitué de PET. Ce matériau est relativement rigide et peut mal à s'adapter à certaines parties du corps humain. En effet, les films PET utilisés pendant nos expérimentations ont un module d'Young de 20 daN/mm² alors que, par exemple, les films en polyuréthane (EU94DS) ont un module d'Young de 0,3 N/mm². De plus, dans la littérature, plusieurs encres métalliques ont été imprimées par sérigraphie puis reportées sur des élastomères à base notamment d'Ecoflex et d'hydrogel. Ce type d'assemblage hybride, utilisé notamment dans le domaine de la peau électronique, a un module d'Young de l'ordre de 0,004 N/mm² [83].

L'intégration d'une telle capacité de caractérisation de tissu dans un dispositif embarqué permettrait d'aider dans la prise en charge et le traitement de ces plaies de pression. En effet, comme évoqué précédemment, cette technique de mesure permettrait de prévenir la formation de l'escarre même si ce dernier est quasiment imperceptible à l'œil. Le personnel hospitalier pourrait alors masser la zone par exemple. L'anticipation et la prévention des maladies sont des stratégies éprouvées en médecine. De plus, la spectroscopie d'impédance permettrait de renseigner sur l'état de cicatrisation de la plaie de pression en complément d'un traitement adapté. A la fin du traitement, il serait possible d'envisager cette mesure de bioimpédance comme un indicateur de recouvrement structurel et fonctionnel des différentes couches constitutives de la peau.

Pour réaliser ces mesures de bioimpédance, un analyseur d'impédance a été utilisé : le Solartron SI1260A. Il s'agit d'un instrument volumineux et coûteux. Comme évoqué dans le manuscrit, Analog Devices et Texas Instruments, des fabricants de circuit intégré, ont développé dans amplificateurs à détection synchrone permettant de réaliser une mesure d'impédance. Il s'agit, respectivement, de l'AD5933 et l'AFE4300. Une première étude a été menée sur l'AD5933 (Annexes C, D, E et F). Les principaux éléments d'un spectromètre d'impédance sont réunis au sein d'un boîtier CMS MSOP de 10 broches. Il est, entre autres, pilotable par protocole I2C. Il s'agit de mesurer la densité spectrale de puissance du courant traversant l'impédance à caractériser qui aura été, au préalable, excitée par une tension sinusoïdale d'amplitude et de fréquence connue.

Un premier circuit imprimé a été développé autour de l'AD5933. Il s'agit d'une carte *shield* qui vient se connecter sur une carte de développement Nucleo-L053R8.

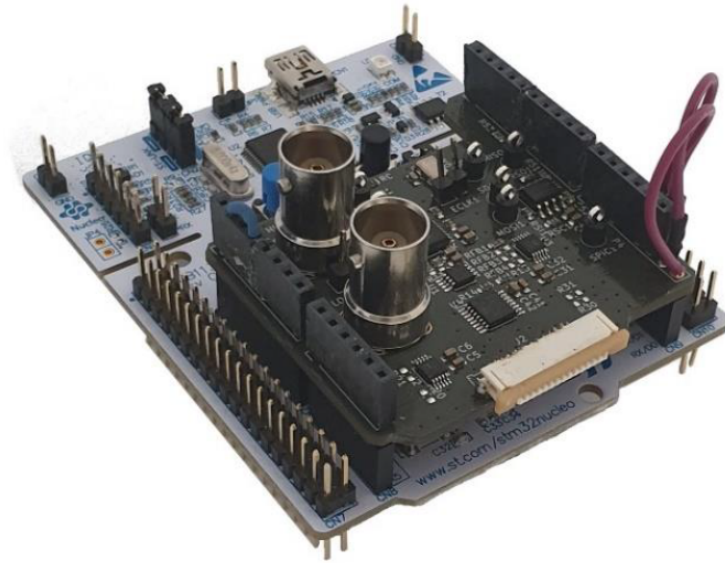


Figure 64 : Carte de développement Nucleo-L053R8 connectée au circuit imprimé de mesure d'impédance dont l'architecture se base sur l'AD5933

Le schéma synoptique de la carte d'impédance est donné à la figure suivante :

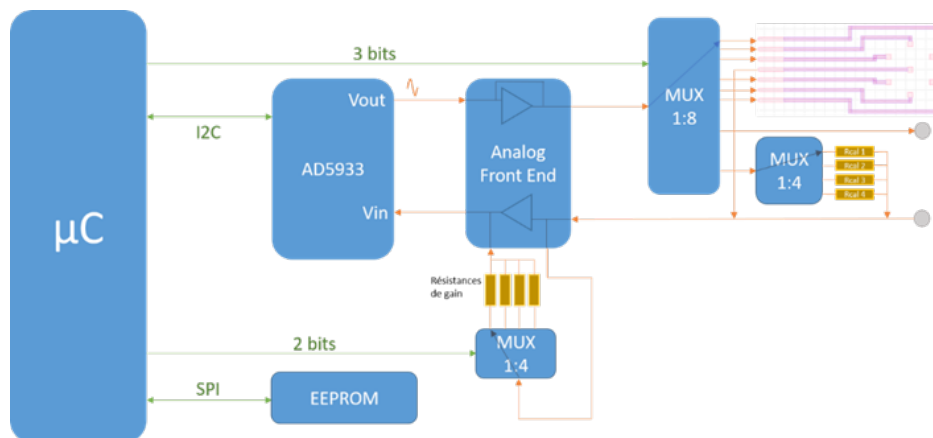


Figure 65 : Schéma synoptique de la carte de mesure d'impédance

Sur la Figure 65, l'*Analog Front End* est un circuit préconisé par Analog Devices pour mesurer des impédances dont le module est inférieur à 1 k Ω , l'intervalle de mesure de l'AD5933 étant de base entre 1 k Ω et 100 k Ω . De plus, le multiplexage permet de faire varier la résistance de gain R_{FB} de l'amplificateur transimpédance, de réaliser la calibration nécessaire avant chaque mesure, et de pouvoir balayer l'ensemble des couples d'électrode de la Figure 63.

Des premiers tests ont été réalisés sur des composants montés en surface. Il s'agit de comparer la mesure effectuée à l'aide du Solartron SI1260 et celle du circuit intégré AD5933. Les résultats sont donnés à la figure suivante :

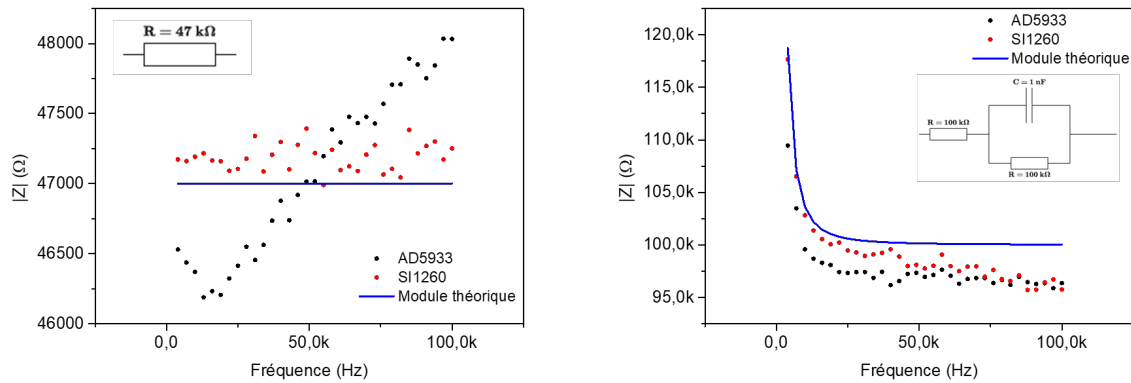


Figure 66 : Mesures comparatives du module de l'impédance sur une résistance de 47 kΩ et une résistance de 100 kΩ en série avec une résistance de 100 kΩ en parallèle avec un condensateur de 1 nF

Les premières mesures réalisées par l'AD5933 se montrent plutôt cohérentes avec les mesures du Solartron SI1260 pour la résistance de 47 kΩ avec une oscillation autour de la valeur théorique de ± 1 kΩ soit une erreur relative de 0,002 %. Pour la seconde configuration, l'analyseur d'impédance SI1260 se montre plus précis que le circuit intégré AD5933 jusqu'à 50 kHz avec une erreur relative de l'ordre, respectivement, de 1 % contre 3 %. Au-delà de cette fréquence, les deux solutions sont quasiment équivalentes.

D'après les résultats précédents, il est clair que ce circuit intégré se montrer pertinent comme solution portable pour réaliser des mesures d'impédance.

Une étude supplémentaire devra être menée afin de l'associer à l'électronique permettant de réaliser l'iontophorèse présentée au chapitre suivant et à des électrodes flexibles et conformables pour réaliser une plateforme de diagnostic et de traitement de plaie.

Références

- [1] P. N. Dhruv, S. S. Meena, R. C. Pullar, F. E. Carvalho, R. B. Jotania, P. Bhatt, C. Prajapat, J. P. Barros Machado, T. Chandrasekhar Rao and C. Basak, "Investigation of structural, magnetic and dielectric properties of gallium substituted Z-type $\text{Sr}_3\text{Co}_2\text{-xGa}_x\text{Fe}_{24}\text{O}_{41}$ hexaferrites for microwave absorbers," *Journal of Alloys and Compounds*, vol. 822, 2020.
- [2] G. Bonmassar, S. Iwaki, G. Goldmakher, L. M. Angelone, J. W. Belliveau and M. H. Lev, "On the Measurement of Electrical Impedance Spectroscopy (EIS) of the Human Head," *Int. J. Bioelectromagn.*, vol. 12, no. 1, p. 32–46, 2010.
- [3] M. Weckström, E. Kouvalainen and M. Juusola, "Measurement of cell impedance in frequency domain using discontinuous current clamp and white-noise-modulated current injection," *Pflügers Archiv*, vol. 421, 1992.
- [4] M. Min, U. Pliquet, T. Nacke, A. Barthel, P. Annus and R. Land, "Signals in bioimpedance measurement: different waveforms for different tasks," *13th International Conference on Electrical Bioimpedance and the 8th Conference on Electrical Impedance Tomography*, vol. 17, pp. 181-184, 2007.
- [5] T. Paavle, M. Min and T. Parve, "Aspects of Using Chirp Excitation for Estimation of Bioimpedance Spectrum," in *Fourier Transform - Signal Processing*, IntechOpen, 2012.
- [6] M. Min, J. Ojarand, O. Märtens, T. Paavle, R. Land, P. Annus, M. Rist, M. Reidla and T. Parve, "Binary Signals in Impedance Spectroscopy," *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, pp. 134-137, 2012.
- [7] P. Annus, M. Min, J. Ojarand, T. Paavle, R. Land, P. Ellervee and T. Parve, "Multisine and Binary Multifrequency Waveforms in Impedance Spectrum Measurement – A Comparative Study," *5th European Conference of the International Federation for Medical and Biological Engineering*, pp. 1265-1268, 2011.
- [8] C. Donaghy-Spargo and A. Yakovlev, "Oliver Heaviside's electromagnetic theory," *Phil. Trans. R. Soc. A*, 2018.
- [9] A. Kennelly, "Impedance," *Proceedings of the IEEE*, vol. 72, no. 4, 1984.
- [10] A. K. Jonscher, "Dielectric relaxation in solids," *Journal of Physics D: Applied Physics*, vol. 32, no. 14, 1999.
- [11] S. Grimnes and O. Martinsen, *Bioimpedance & Bioelectricity basics* ; 3rd edition, Elsevier, 2014.
- [12] A. K. Jonscher, "The 'universal' dielectric response," *Nature*, 1977.

- [13] B. Greenebaum and F. S. Barnes, Bioengineering and Biophysical Aspects of Electromagnetic Fields ; 3rd edition, Taylor & Francis Group, 2007.
- [14] K. S. Cole and R. H. Cole, "Dispersion and Absorption in Dielectrics I. Alternating Current Characteristics," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 9, no. 4, 1941.
- [15] K. S. Cole and R. H. Cole, "Dispersion and Absorption in Dielectrics II. Direct Current Characteristics," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 10, no. 2, 1942.
- [16] E. Barsoukov and J. R. Macdonald, Impedance Spectroscopy: Theory, Experiment, and Applications ; 2nd Edition, Wiley, 2005.
- [17] H. P. Schwan and C. F. Kay, "THE CONDUCTIVITY OF LIVING TISSUES," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 65, no. 6, 1957.
- [18] C. Gabriel, S. Gabriel and E. Corthout, "The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey," *Physics in Medicine & Biology*, vol. 41, no. 11, 1996.
- [19] C. Gabriel and A. Peyman, "Dielectric measurement: error analysis and assessment of uncertainty," *Physics in Medicine & Biology*, vol. 51, no. 23, 2006.
- [20] D. A. Pollacco, L. Farina, P. S. Wismayer, L. Farrugia and C. V. Sammut, "Characterization of the dielectric properties of biological tissues and their correlation to tissue hydration," *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, vol. 25, no. 6, pp. 2191-2197, 2018.
- [21] V. Shepherd, "The Cytomatrix as a Cooperative System of Macromolecular and Water Networks," *Current Topics in Developmental Biology*, pp. 171-223, 2006.
- [22] M. Bibbo and D. Wilbur, "The Cell: Basic Structure, Function, and Molecular Basis of Neoplasia," in *Comprehensive Cytopathology ; 3rd Edition*, Elsevier, 2008.
- [23] R. Pethig, "Dielectric properties of cell," in *Dielectrophoresis: Theory, Methodology and Biological Applications*, Wiley, 2017.
- [24] G. J. Tortora and B. H. Derrickson, Principles of Anatomy and Physiology ; 15th Edition, Wiley, 2016.
- [25] J. Golowasch and F. Nadim, "Capacitance, membrane," in *Encyclopedia of Computational Neuroscience*, Springer, 2014.
- [26] G. H. Markx and C. L. Davey, "The dielectric properties of biological cells at radiofrequencies: applications in biotechnology," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 25, pp. 161-171, 1999.
- [27] H. Träuble, "Membrane Electrostatics," *Structure of Biological Membranes*, vol. 34, 1977.

- [28] L. Callegaro, "The metrology of electrical impedance at high frequency: a review," *Measurement Science and Technology*, vol. 20, no. 2, 2008.
- [29] A. Gefen and D. Weihs, "Cytoskeleton and plasma-membrane damage resulting from exposure to sustained deformations: A review of the mechanobiology of chronic wounds," *Medical Engineering & Physics*, vol. 38, no. 9, 2016.
- [30] N. Slomka and A. Gefen, "Relationship Between Strain Levels and Permeability of the Plasma Membrane in Statically Stretched Myoblasts," *Annals of Biomedical Engineering*, 2012.
- [31] Y. Takeuchi, K. Ueno, T. Mizoguchi, M. Samura, T. Harada, A. Oga, T. Murata, T. Hosoyama, N. Morikage and K. Hamano, "Development of Novel Mouse Model of Ulcers Induced by Implantation of Magnets," *Scientific Reports*, 2017.
- [32] A. L. Strong, A. C. Bowles, C. P. MacCrimmon, S. J. Lee, T. P. Frazier, A. J. Katz, B. Gawronska-Kozak, B. A. Bunnell and J. M. Gimble, "Characterization of a Murine Pressure Ulcer Model to Assess Efficacy of Adipose-derived Stromal Cells," *Plast. Reconstr. Surg. Glob. Open*, 2015.
- [33] M. N. Anas and M. N. Ahmad, "Development of Tetrapolar Conductivity Cell for Liquid Measurement Application," *Sensors and Transducers*, 2013.
- [34] B. H. Cornish, B. J. Thomas and L. C. Ward, "Effect of Temperature and Sweating on Bioimpedance Measurements," *Appl. Radiat. Isot.*, 1998.
- [35] J. E. Sanders, M. A. Moehring, T. M. Rothlisberger, R. H. Phillips, T. Hartley, C. R. Dietrich, C. B. Redd, D. W. Gardner and J. C. Cagle, "A Bioimpedance Analysis Platform for Amputee Residual Limb Assessment," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 63, no. 8, pp. 1760-1770, 2016.
- [36] J. A. Gutierrez Gnechi, "Voltage Controlled Current Source (VCCS) for Electrical Impedance Tomography (EIT) Measurements in the α and β Dispersion Frequency Ranges," *IEEE Electronics, Robotics and Automotive Mechanics Conference*, pp. 677-681, 2010.
- [37] H. M. Dastjerdi, R. Soltanzadeh and H. Rabbani, "Designing and Implementing Bioimpedance Spectroscopy Device by Measuring Impedance in a Mouse Tissue," *J. Med. Signals Sens.*, 2013.
- [38] B. Bullocks, R. Suresh and R. Rengaswamy, "Rapid impedance measurement using chirp signals for electrochemical system analysis," *Computers & Chemical Engineering*, vol. 106, pp. 421-436, 2017.

- [39] F. Soulier, A. Lamlih, V. Kerzérho and S. Bernard, "A multitone analysis for bioimpedance spectroscopy using minimal digital resource," *12th International Conference on Sensing Technology (ICST)*, 2018.
- [40] A. R. Waterworth, P. Milnes, R. H. Smallwood and B. H. Brown, "Cole equation modelling to measurements made using an impulse driven transfer impedance system," *Physiological Measurement*, vol. 21, no. 1, 2000.
- [41] K. G. Boone and D. S. Holder, "Current approaches to analogue instrumentation design in electrical impedance tomography," *Physiological Measurement*, vol. 17, no. 4, 1996.
- [42] B. Fu and T. J. Freeborn, "Residual impedance effect on emulated bioimpedance measurements using Keysight E4990A precision impedance analyzer," *Measurement*, vol. 134, 2019.
- [43] B. Taji, S. Shirmohammadi, V. Groza and I. Batkin, "Impact of Skin–Electrode Interface on Electrocardiogram Measurements Using Conductive Textile Electrodes," *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, vol. 63, no. 6, 2014.
- [44] M. Grossi and B. Riccò, "Electrical impedance spectroscopy (EIS) for biological analysis and food characterization: a review," *Journal of Sensors and Sensor Systems*, 2017.
- [45] B. Fu and T. J. Freeborn, "Cole-impedance parameters representing biceps tissue bioimpedance in healthy adults and their alterations following eccentric exercise," *Journal of Advanced Research*, vol. 25, 2020.
- [46] K. S. Cole, "PERMEABILITY AND IMPERMEABILITY OF CELL MEMBRANES FOR IONS," *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 1940.
- [47] C. A. González-Correa, E. Colina-Gallo and D. A. Miranda-Mercado, "The alpha parameter of the Cole-Cole model as an indicator of fibromyalgia," *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 1272, 2018.
- [48] B. Onaral, H. P. Schwan and H. H. Sun, "Platinum electrode polarization: onset of nonlinear behavior in the frequency and time domains," *Proceedings of IEEE Frontiers of Engineering in Health Care Conference*, 1982.
- [49] T. Yamamoto and Y. Yamamoto, "Electrical properties of the epidermal stratum corneum," *Medical and biological engineering*, 1976.
- [50] Ø. G. Martinsen, S. Grimnes and J. Karlsen, "Low frequency dielectric dispersion of microporous membranes in electrolyte solution," *Journal of Colloid and Interface Science*, pp. 107-110, 1998.
- [51] J. J. Ackmann and M. A. Seitz, "Methods of complex impedance measurements in biologic tissue," *Critical reviews in biomedical engineering*, 1984.

- [52] Ø. G. Martinsen, S. Grimnes and E. Haug, "Measuring depth depends on frequency in electrical skin impedance measurements," *Skin Research and Technology*, 2006.
- [53] S. M. Peirce, T. C. Skalak and G. T. Rodeheaver, "Ischemia-reperfusion injury in chronic pressure ulcer formation: A skin model in the rat," *Wound Repair Regen.*, 2008.
- [54] C. Bouten, "Etiology and pathology of pressure sores," Thesis, Technische Universiteit Eindhoven, 1996.
- [55] S. N., O.-T. S. and G. A., "Cellular Deformations under Compression in Cells Involved in Deep Tissue Injury," *Bioengineering Research of Chronic Wounds*, 2009.
- [56] R. J. Gray, D. Voegeli and D. L. Bader, "Features of lymphatic dysfunction in compressed skin tissues—Implications in pressure ulcer aetiology," *Journal of Tissue Viability*, vol. 25, no. 1, pp. 26-31, 2016.
- [57] E. Belfrage, P. Hjemdahl and B. B. Fredholm, "Metabolic effects of blood flow restriction in adipose tissue," *Acta Physiologica Scandinavica*, 1979.
- [58] B. R. Slegtenhorst, F. J. M. F. Dor, H. Rodriguez, F. J. Voskuil and S. G. Tullius, "Ischemia/reperfusion Injury and its Consequences on Immunity and Inflammation," *Current Transplantation Reports*, 2014.
- [59] T. Kalogeris, C. P. Baines, M. Krenz and R. J. Korthuis, "Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury," *International Review of Cell and Molecular Biology*, vol. 298, pp. 229-317, 2012.
- [60] Q. Yang, G.-W. He, M. J. Underwood and C.-M. Yu, "Cellular and molecular mechanisms of endothelial ischemia/reperfusion injury: perspectives and implications for postischemic myocardial protection," *Am. J. Transl. Res.*, 2016.
- [61] D. V. DeFily and W. M. Chilian, "Preconditioning protects coronary arteriolar endothelium from ischemia-reperfusion injury," *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, vol. 265, no. 2, 1993.
- [62] A. Strumwasser, A. Bhargava and G. P. Victorino, "Attenuation of endothelial phosphatidylserine exposure decreases ischemia-reperfusion induced changes in microvascular permeability," *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, vol. 84, no. 6, 2018.
- [63] B. Goldstein and J. Sanders, "Skin Response to Repetitive Mechanical Stress: A New Experimental Model in Pig," *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, vol. 79, no. 3, 1998.
- [64] R. Salcido, S. B. Fisher, J. C. Donofrio, M. Bieschke, C. Knapp, R. Liang, E. K. LeGrand and J. M. Carney, "An animal model and computer-controlled surface pressure delivery

system for the production of pressure ulcers," *Journal of Rehabilitation Research and Development*, 1995.

- [65] I. Stadler, R.-Y. Zhang, P. Oskoui, M. S. Whittaker and R. J. Lanza fame, "Development of a Simple, Noninvasive, Clinically Relevant Model of Pressure Ulcers in the Mouse," *Journal of Investigative Surgery*, 2004.
- [66] S. L. Swisher, M. C. Lin, A. Liao, E. J. Lee flang, Y. Khan, F. J. Pavinatto, K. Mann, A. Naujokas, D. Young, S. Roy, M. R. Harrison, A. Claudia Arias, V. Subramanian and M. M. Maharbiz, "Impedance sensing device enables early detection of pressure ulcers in vivo," *Nature Communications*, vol. 6, 2015.
- [67] P. Patel and G. H. Markx, "Dielectric measurement of cell death," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 43, no. 7, 2008.
- [68] C. S. Poon and T. T. Choy, "Frequency dispersions of human skin dielectrics," *Biophysical Journal*, vol. 34, pp. 135-147, 1981.
- [69] B. Hirschorn, M. E. Orazem, B. Tribollet, V. Vivier, I. Frateur and M. Musiani, "Constant-Phase-Element Behavior Caused by Resistivity Distributions in Films: I. Theory," *Journal of The Electrochemical Society*, vol. 157, 2010.
- [70] B. Hirschorn, M. E. Orazem, B. Tribollet, V. Vivier, I. Frateur and M. Musiani, "Constant-Phase-Element Behavior Caused by Resistivity Distributions in Films II. Applications," *Journal of The Electrochemical Society*, vol. 157, 2010.
- [71] [Online]. Available: <https://www.mathworks.com/help/optim/ug/fmincon.html>. [Accessed Juillet 2020].
- [72] [Online]. Available: <https://www.mathworks.com/help/optim/ug/lsqnonlin.html>. [Accessed Juillet 2020].
- [73] T. J. Freeborn, B. Maundy and A. S. Elwakil, "Extracting the parameters of the double-dispersion Cole bioimpedance model from magnitude response measurements," *Medical & Biological Engineering & Computing*, vol. 52, 2014.
- [74] R. Liu, X. Dong, F. Fu, X. Shi, F. You and Z. Ji, "Primary Multi-frequency Data Analyze in Electrical Impedance Scanning," *IEEE Engineering in Medicine and Biology 27th Annual Conference*, pp. 1504-1507, 2005.
- [75] V. D. Jovic, "Determination of the correct value of C dl from the impedance results fitted by the commercially available software," Gamry Instruments, Inc., 2003.
- [76] D. A. Yousri, A. M. AbdelAty, L. A. Said, A. AboBakr and A. G. Radwan, "Biological Inspired Optimization Algorithms for Cole-Impedance Parameters Identification," *AEU - International Journal of Electronics and Communications*, vol. 78, 2017.

- [77] [Online]. Available: <https://www.mathworks.com/help/matlab/ref/rand.html>. [Accessed Juillet 2020].
- [78] Y. Yamamoto and T. Yamamoto, "Characteristics of skin admittance for dry electrodes and the measurement of skin moisturisation," *Medical and Biological Engineering and Computing*, vol. 24, 1986.
- [79] T. J. Freeborn and S. Critcher, "Cole-Impedance Model Representations of Right-Side Segmental Arm, Leg, and Full-Body Bioimpedances of Healthy Adults: Comparison of Fractional-Order," *Fractal and Fractional*, vol. 5, 2021.
- [80] B. Hirschorn, M. E. Orazem, B. Tribollet, V. Vivier, I. Frateur and M. Musiani, "Determination of effective capacitance and film thickness from constant-phase-element parameters," *Electrochimica Acta*, vol. 55, 2010.
- [81] D. a. D. R. Bora, "Various skin impedance models based on physiological stratification," *IET Syst. Biol.*, 2020.
- [82] C. Trainito, O. Français and B. Le Pioufle, "Analysis of pulsed electric field effects on cellular tissue with Cole-Cole model: Monitoring permeabilization under inhomogeneous electrical field with bioimpedance parameter variation," *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 29, 2015.
- [83] S. H. Kim, S. Jung, I. S. Yoon, C. Lee, Y. Oh and J. Hong, "Ultrastretchable Conductor Fabricated on Skin-Like Hydrogel-Elastomer Hybrid Substrates for Skin Electronics," *Advanced Materials*, vol. 30, 2018.

Chapitre 4

Mise en place d'une iontophorèse à visée thérapeutique pour le traitement de l'escarre

1. Introduction	211
2. L'iontophorèse	211
2.1. Les différents mécanismes de transport impliqués dans l'iontophorèse	212
2.2. Les divers paramètres influençant le transport iontophorétique	216
2.2.1. La densité de courant	216
2.2.2. Le pH	216
2.2.3. La concentration en molécule active	217
2.3. L'iontophorèse à visée thérapeutique : avantages et limites dans la cicatrisation cutanée	218
3. Etudes <i>in vitro</i> de la diffusion de molécules actives par iontophorèse	220
3.1. Intérêt d'une étude <i>in vitro</i>	220
3.2. Matériel mise en place et méthodes utilisées	220
3.2.1. La tolazoline comme molécule active pour les tests de diffusion	220
3.2.2. Le banc de diffusion	221
3.2.3. Les électrodes Ag/AgCl couvertes de carbone	226
3.2.4. La cellule de Franz	227
3.2.5. Protocoles	228
3.2.6. Méthode de dosage de la tolazoline	232
3.3. Analyse des résultats et discussion	235
4. Etude préliminaire de diffusion <i>in vivo</i> du tréprostinil	248
4.1. Le tréprostinil promoteur de cicatrisation de plaies	248
4.2. Matériel mise en place et méthodes utilisées	248
4.3. Analyse des résultats et discussion	251
5. Conclusion	255
Références	257

1. Introduction

Ce chapitre décrit les différentes étapes menant à la mise en place d'une iontophorèse thérapeutique visant à favoriser la cicatrisation de l'escarre.

La première partie présente l'iontophorèse, technique d'administration transdermique notamment de médicaments. Elle est basée sur le transfert de molécules chargées à l'aide d'un courant électrique de faible intensité [1]. Ce transport iontophorétique de molécules peut être impacté par plusieurs paramètres comme la densité de courant, le pH ou encore la concentration en molécule. Enfin, il sera question de voir quels sont les avantages et les limites de l'iontophorèse associée à un vasodilatateur, utilisée comme promoteur de cicatrisation.

Il s'agira de détailler, dans les parties suivantes la mise en place de cette iontophorèse thérapeutique, avec comme première étape une étude *in vitro* sur peau excisée d'oreilles de cochon. Cette étude s'appuie sur le banc de diffusion développé par Feeligreen connectée à des électrodes flexibles. Il sera question de tester divers paramètres comme la densité de courant, le type de réservoir sur l'efficacité du transport iontophorétique.

Enfin la dernière partie détaillera la mise en place de tests préliminaires sur un modèle de rats. Deux protocoles ont été réalisés : le premier servant à cribler le type d'électrodes à associer au banc de diffusion de Feeligreen pour obtenir la meilleure vasodilatation, le second portant sur l'effet du type de courant associé à l'électrode, préalablement sélectionnée, sur la vasodilatation.

2. L'iontophorèse

La diffusion transdermique de médicaments, permettant l'administration non-invasive d'actifs thérapeutiques, présente un potentiel significatif. En effet, grâce à cette technique, il est possible de passer outre la dégradation chimique engendrée par le passage dans le tube digestif. En outre, la peau offre une surface grande accessible d'environ 2 m².

La peau, et notamment sa couche la plus externe, le *stratum corneum*, fait office de barrière contre de nombreuses agressions physiques et chimiques extérieures. Ainsi, faire pénétrer des actifs au travers de cette dernière, représente un véritable challenge. Le *stratum corneum* est composé de cornéocytes embarquées dans une matrice lipidique permettant de maintenir l'homéostasie et de réguler la perte transdermique en eau. Cette structure « brique et mortier » (Figure 1) relativement simple impose, cependant, une tortuosité significative au chemin de diffusion des molécules.

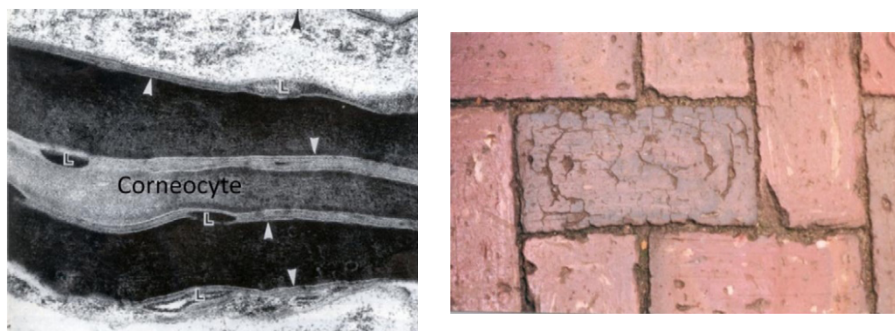


Figure 1 : Structure de type « brique et mortier » du stratum corneum : les cornéocytes comme « briques » et les lipides intercellulaires comme « mortier »

La composition et l'architecture linéaire du *stratum corneum* limitent le nombre de molécules pouvant être diffusées de manière passive dans la peau. Celles, qui sont disponibles actuellement (nicotine, clonidine, testostérone, ...), ont un poids moléculaire faible et sont très actives dans le sang à des concentrations de l'ordre de quelques ng/ml. Pour pouvoir augmenter le spectre de médicaments pouvant être diffusés dans la peau, il a été nécessaire de développer des techniques physico-chimiques visant à améliorer le passage de ces molécules sans compromettre les propriétés protectrices de la peau et sans provoquer d'irritation. L'iontophorèse, technique non-invasive utilisant un courant électrique pour permettre la diffusion d'une molécule neutre ou chargée à travers une membrane synthétique ou biologique, fait partie de ces techniques. La quantité de molécules délivrées dans la peau est directement proportionnelle à la quantité de charge, la traversant. Cette quantité dépend de la durée, de l'intensité, du profil du courant appliqué et de la surface de la peau en contact avec l'électrode. Il est donc possible de contrôler la cinétique de la molécule diffusée en modulant le profil du courant. En outre, comme le flux du courant iontophorétique dépend uniquement du mouvement des ions, il est possible de diffuser des molécules dont les propriétés physico-chimiques ne permettent pas de les diffuser de manière passive. Ainsi, les molécules hydrophiles/chargées solubles dans l'eau ayant très peu d'affinité avec les lipides, qui peuvent difficilement être diffusées passivement, sont des candidats idéaux pour le transport électriquement assisté à travers la peau.

2.1. Les différents mécanismes de transport impliqués dans l'iontophorèse

Un dispositif iontophorétique est un ensemble constitué d'une source de courant pilotée par un microprocesseur et de deux électrodes à compartiments un pour l'anode et l'autre pour la cathode. La molécule à diffuser est déposée dans le compartiment sous l'électrode de même charge, l'électrode « active ». Par exemple, une molécule chargée positivement devrait être placée sous l'anode. L'autre électrode sert à fermer le circuit.

Il existe de nombreux types d'électrode pour l'iontophorèse. Les plus utilisées sont celles à base du couple Ag/AgCl. En effet, ce dernier évite les fortes baisses de pH qui ont pu être observées avec des électrodes en platine (Pt). L'électro-chimie avec le couple Ag/AgCl se produit à des tensions inférieures à l'électrolyse de l'eau, qui n'est pas souhaitable et cela pour deux raisons. Tout d'abord, les protons H^+ résultants de cette électrolyse entraînent une diminution du pH sous l'anode pouvant provoquer des brûlures sur la peau en contact avec les électrodes. De plus, ces protons du fait de leur petite taille et de leur grande mobilité peuvent réduire l'efficacité de l'administration de médicaments. Enfin, les ions H^+ peuvent avoir un effet néfaste sur la stabilité du médicament.

Lorsque le courant est appliqué entre l'anode et la cathode des électrodes, le champ électrique, ainsi généré, impose un sens de circulation aux ions présents. Les ions de charge positive, se trouvant au sein du compartiment anodique, sont repoussés vers la cathode tandis que les ions chargés négativement se déplacent dans le sens opposé (Figure 2).

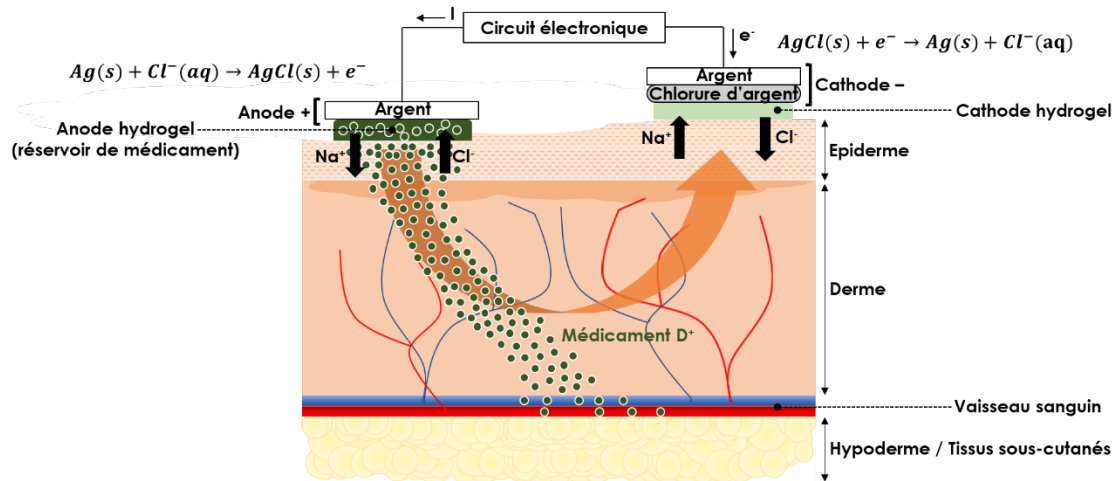


Figure 2 : Schéma de principe de l'iontophorèse. La particule chargée positivement se trouvant sous l'anode (électrode de travail) est repoussée grâce au courant et se diffuse dans l'épiderme et le derme

L'équation de Nernst-Planck est une reformulation physique de la loi de diffusion à l'échelle macroscopique de Fick, étendue au mouvement des molécules chargées. Cette équation, mise en exergue expérimentalement par Nernst et théorisée par Planck, est utilisée notamment pour décrire différents phénomènes biologiques comme l'excitation cellulaire [2]. Le flux J_k suivant la direction x (nombre de particules chargées traversant une surface perpendiculaire à la direction de leur mouvement pendant un intervalle de temps dt) de particules chargées positivement ou négativement peut s'exprimer selon la formule suivante :

$$J_k(x) = -D_k \left(\frac{dc_k}{dx} + \frac{Fz_k}{RT} c_k \frac{d\phi}{dx} \right) \quad (4.1)$$

Avec $D_k = \mu_k \frac{RT}{N} = \mu_k k_B T$ le coefficient de diffusion (R correspond à la constante des gaz parfaits, T la température absolue en kelvins et k_B la constante de Boltzmann), F une force, z_k la valence de l'espèce ionique (valeur entière négative pour les anions et valeur entière positive pour les cations), c_k la concentration de l'espèce ionique et ϕ le potentiel électrique.

Le flux J_i à travers la peau d'une molécule soumise à un champ électrique E peut être décrit par une version modifiée de l'équation (4.1) en tenant compte du flux convectif de solvant [3].

$$J_i = -D_i \frac{\partial C_i}{\partial x} - \frac{D_i C_i F}{RT} z_i \frac{\partial \phi}{\partial x} \pm C_i v \quad (4.2)$$

Les grandeurs D_i et C_i représentent respectivement le coefficient de diffusion et la concentration. Le terme z_i correspond à la valence de l'espèce ionique.

Ainsi, la mobilité électrique d'une espèce ionique est intrinsèquement liée au champ électrique. Cette mobilité représente une diffusion ordonnée.

Le flux iontophorétique J_X^I d'une espèce chargée notée X , en régime permanent, peut s'exprimer comme la somme de trois mécanismes de transport distincts : l'électromigration (EM) J_X^{EM} , l'électroosmose (EO) J_X^{EO} et la diffusion passive J_X^{PD} . Nous obtenons ainsi :

$$J_X^I = J_X^{EM} \pm J_X^{EO} + J_X^{PD} \quad (4.3)$$

Pour les molécules chargées, la diffusion passive au travers du *stratum corneum* est négligeable. Ainsi, le transport des molécules par iontophorèse repose, principalement, sur l'électromigration et l'électroosmose. Leur contribution sur le flux iontophorétique dépend des propriétés physicochimiques de la molécule et des conditions expérimentales [4]. En outre, les molécules chargées peuvent ne pas pénétrer dans la peau via les chemins lipidiques tortueux intracellulaires entre les cornéocytes (structure « brique » et « mortier ») qu'elles emprunteraient dans le cadre d'une diffusion passive mais suivre, plutôt, les chemins de résistance électrique minimale (follicules pileux et glandes sudoripares) [5].

En sus de ces différents chemins de type « shunt », la pénétration de molécules chargées peut aussi être facilitée par la réorientation transitoire, lorsqu'un champ électrique est appliqué à la peau, des lipides et des protéines du *stratum corneum* [6]. En effet, les protéines et les lipides possèdent des moments dipolaires qui s'aligneront suivant la direction du champ électrique qui leur est imposé. C'est cette réorientation qui peut engendrer des chemins de conduction transitoires (pores) au sein du *stratum corneum* [7].

L'électromigration est le mouvement ordonné d'ions depuis le compartiment de l'électrode active vers le compartiment de l'électrode « passive » en présence d'un champ électrique. Le flux électromigratoire d'une espèce ionique X s'exprime, selon la loi de Faraday par :

$$J_X^{EM} = \frac{t_X}{z_X A F} * i_X \quad (4.4)$$

Avec i_X le courant appliqué, F la constante de Faraday, A la surface transversale à travers laquelle le transport se produit, z_X la charge et t_X le nombre de transport ionique décrivant la fraction du courant total transféré par la molécule chargée X . Ce dernier dépend des propriétés physicochimiques de X et des interactions avec les mêmes propriétés des porteurs de charge présents dans le système.

La relation (4.4) peut être plus spécifiquement décrite :

$$J_X^{EM} = \left(\frac{1}{z_X F} \right) \frac{u_X c_X z_X}{\sum_{i=0}^n u_i c_i z_i} * I_D \quad (4.5)$$

La grandeur I_D correspond à la densité de courant $\left(\frac{I}{A} \right)$. Les grandeurs u_X , c_X et z_X désignent respectivement la mobilité, la concentration et la charge de la molécule chargée ; le dénominateur de l'équation (4.5) correspond à la somme de ces diverses propriétés pour les autres ions contribuant à l'iontophorèse [8].

La relation (4.5) met en exergue la compétition entre les différentes espèces ioniques impliquées dans le transport iontophorétique pouvant dégrader son efficacité d'administration de substances actives. En outre, cette compétition dépend de la concentration et de la mobilité électrique des espèces impliquées dans ce transport.

L'électromigration est le mécanisme principal d'électrotransport impliqué dans l'amélioration de la pénétration de molécule à travers la peau.

L'autre mécanisme de transport impliqué dans l'iontophorèse est l'électroosmose. Il est possible d'utiliser la thermodynamique hors équilibre pour expliquer ce phénomène. Une différence de potentiel et une différence de pression appliquée au travers d'une membrane peuvent générer respectivement une densité de courant j et un flux volumique J_v ($\text{mL.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$) [8] [9]. Pikal a, dans la littérature, exprimé linéairement ces deux grandeurs de la manière suivante :

$$J_v = L_{11}\Delta P + L_{12}(-\Delta V) \quad (4.6.1)$$

$$j = L_{21}\Delta P + L_{22}(-\Delta V) \quad (4.6.2)$$

Les coefficients d'Onsager L_{ij} sont liés aux diverses propriétés du système iontophorétique (fluide, membrane) et décrivent des termes d'interaction. Ainsi la grandeur L_{12} définit la création d'un flux volumique suite à l'application d'une différence de potentiel au travers d'une membrane. Le terme L_{11} décrit le flux volumique résultant de l'application d'un gradient de pression. Le coefficient L_{22} exprime une conductance selon la loi d'Ohm.

Dans un système iontophorétique, lorsqu'un champ électrique est appliqué au travers de la peau, le gradient de pression ΔP est nul. Le rapport des relations (4.6.1) et (4.6.2) se simplifie, ainsi :

$$\frac{J_v}{j} = \frac{L_{12}}{L_{22}} = \frac{\text{Volume flow}}{\text{Current flow}} \quad (4.7)$$

L'électroosmose est, donc, un flux volumique induit par un courant électrique.

Le point isoélectrique de la peau est d'environ 4,8 [10] ce qui signifie que cette dernière est chargée négativement dans des conditions physiologiques, favorisant, ainsi, la pénétration de cations. La peau agit alors comme une membrane sélective de cations. Cette perméabilité engendre un flux de solvant convectif de l'anode vers la cathode [9]. Ce flux correspond à l'électroosmose. Ce phénomène peut servir, non seulement, pour délivrer des molécules non chargées depuis l'anode mais aussi pour extraire de la peau des molécules neutres à la cathode.

2.2. Les divers paramètres influençant le transport iontophorétique

2.2.1. La densité de courant

Il est clair, d'après la relation (4.4), que le courant appliqué à la peau est lié directement à l'efficacité de l'iontophorèse dans l'administration de substances actives. Il est possible d'affirmer, selon la relation (4.2), que l'ajout du gradient de potentiel électrique à celui de la concentration au travers de la peau améliore cette administration. Cette dernière peut être entièrement modulée en modifiant les caractéristiques du courant appliqué : durée, intensité et profil. L'influence de la densité de courant sur l'efficacité de l'administration de médicaments dans la peau par iontophorèse a été démontrée dans de nombreuses études notamment sur la méthylprednisolone, un corticoïde. Ce dernier est utilisé pour le traitement de diverses maladies oculaires. L'étude menée sur des yeux de lapin a mis en évidence une amélioration du passage du méthylprednisolone dans l'humeur aqueuse avec l'augmentation du courant à temps constant de 4 minutes : 16,09 µg/mL pour 400 µA, 32,87 µg/mL pour 1 mA et 46 µg/mL pour 2 mA [11]. En outre, lorsque le flux passif des solutions aqueuses est minimal, plusieurs études de diffusion *in vitro* ont montré qu'il existe une corrélation entre la densité de courant et le flux de molécule. Cependant, cette augmentation de flux iontophorétique dépend également des propriétés physico chimiques des molécules ou encore de leur formulation. En outre, augmenter le courant appliqué permet d'augmenter le flux iontophorétique des peptides [12].

2.2.2. Le pH

Le pH de la solution contenant la molécule active en contact avec la peau peut impacter le transport iontophorétique de ces espèces présentes en solution au travers deux mécanismes distincts. Il aura un effet sur le degré d'ionisation de la molécule. Par exemple, pour une base faible, augmenter le pH aura pour effet de diminuer la part ionisée de la molécule et de décroître la contribution électromigratoire au flux iontophorétique. Le pH environnant a également un effet sur la peau. Cette dernière a un point isoélectrique (pI) compris entre 4 et 4,5. Au-delà de ce pH(I), la peau se comporte comme une membrane perméable à l'eau, les groupes carboxyliques acides étant ionisés. Le flux de solvant électroosmotique, second mécanisme de transport que nous avons précédemment évoqué, apparaît alors.

L'augmentation du pH peut induire l'administration iontophorétique d'une molécule faiblement basique de deux manières opposées : en approchant du pKa de la molécule, la contribution de l'électromigration au flux iontophorétique sera réduite ; à un pH plus élevé, compris entre 6,5 et 7, l'électroosmose commencera à contribuer au flux iontophorétique. Les effets relatifs à ces deux tendances opposées dépendent des propriétés physicochimiques de la molécule. Asma Djabri *et al.* ont investigué sur l'iontophorèse comme méthode potentielle d'administration du médicament Midazolam dans le milieu pédiatrique. La solubilité aqueuse du Midazolam est très faible à des valeurs de pH supérieures à 5 mais augmente significativement à des pH acides où la molécule est prédominante sous sa forme ionisée [13]. Ils ont réalisé des expériences avec des solutions donneuses ayant un pH compris entre 3 et 4,5. Les résultats sont regroupés dans la Figure 3:

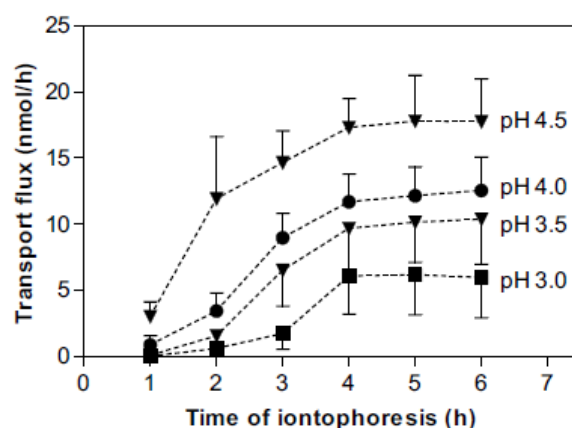


Figure 3 : Transport iontophorétique du Midazolam (moyenne $\pm \sigma$, $n = 3-4$) en fonction du pH de la solution donneuse. Le Midazolam a été délivrée à partir d'une solution à 7,5 mM et un courant de 0,36 mA [13]

Sur la Figure 3, le flux iontophorétique augmente avec le pH. On constate, en effet, que pour un pH de 4,5, le flux est, au bout de 6 h, de $18 \pm 3,2$ nmol.h⁻¹ contre seulement de $6,0 \pm 3,0$ nmol.h⁻¹ pour un pH de 3. Les flux à pH = 3,5 et pH = 4,0 se situent entre ces deux extrêmes.

Le pH de la formulation peut également avoir un impact sur l'efficacité du transport de molécule par iontophorèse car les valeurs extrêmes de pH, acides ou basiques, provoqueront un accroissement de la concentration en ions hydronium H_3O^+ et ions hydroxyde HO^- . Ces derniers possèdent des mobilités électriques importantes et lorsqu'ils sont en concentration élevée, ils peuvent perturber l'administration de molécules plus grosses qui possèdent une mobilité plus faible et qui peuvent être présentes en quantité plus faible.

2.2.3. La concentration en molécule active

La concentration en médicament et son impact sur l'administration par voie iontophorétique sont des sujets particulièrement étudiés et bien que les équations évoquées dans la partie précédente semblent suggérer assez facilement une corrélation entre la quantité de médicament

dans la formule et le flux observé, les résultats expérimentaux mettent en exergue que ce n'est pas toujours le cas. Ceci peut s'expliquer par plusieurs raisons : augmenter la quantité de molécule active dans la formulation n'a pas toujours pour effet d'accroître le nombre de molécules dans la peau ; la concentration et la mobilité des ions concurrents peuvent aussi intervenir ; enfin l'effet des propriétés physico-chimiques du médicament et leur impact sur la capacité de la molécule à interagir avec les diverses structures présentes le long de la voie iontophorétique. Lorsqu'un électrolyte supplémentaire est présent dans la formulation, bien que le flux iontophorétique de certaines molécules comme la lidocaïne présente une dépendance quasi linéaire avec la concentration en donneurs, la tendance générale indique plutôt que le profil flux-concentration a une tendance curviligne et tend vers un plafond lorsque la concentration augmente (Figure 4) [14].

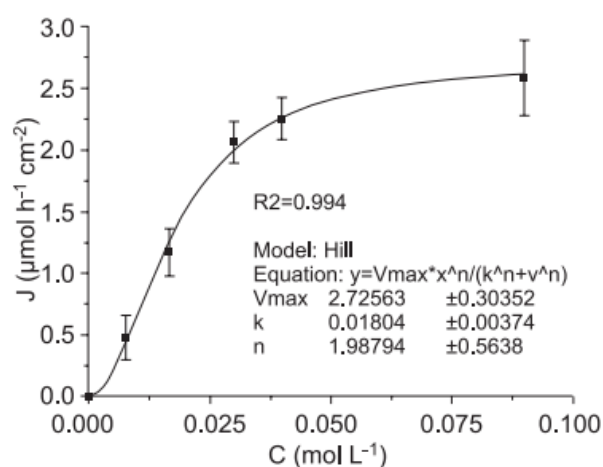


Figure 4 : Flux de galantamine HBr pendant une iontophorèse avec une densité de courant de 1.0 mA/cm². La courbe présente une allure exponentielle en fonction de la concentration en médicament en présence de petits cations compétiteurs provenant du tampon [14]

Quand des électrodes en Ag/AgCl sont utilisées pour réaliser l'iontophorèse, il faut qu'il y ait des ions Cl^- pour les réactions électrochimiques à l'anode. Il devient, alors, nécessaire d'ajouter du chlorure de sodium (NaCl) à la formulation [15]. En l'absence d'électrolytes, il a été démontré que le flux produit par l'iontophorèse est indépendant de la concentration en médicament comme cela a été observé pour le chlorhydrate de lidocaïne [16]. Diego Marro *et al.* ont montré que, sans électrolytes, l'électrotransport de la lidocaïne, du propanolol et de la quinine était indépendant de la concentration lorsque cette dernière est comprise entre 1 et 100 mmol.

2.3. L'iontophorèse à visée thérapeutique : avantages et limites dans la cicatrisation cutanée

L'iontophorèse à visée thérapeutique permet l'administration non invasive de médicaments à la fois dans la peau avec une application localisée mais aussi dans le système circulatoire général. Plusieurs dispositifs « grand public » ont été développés. On pourra citer notamment le patch Zecuity® (Sumatriptan) indiqué dans le traitement des migraines, retiré du marché par

Teva Pharmaceuticals depuis Juillet 2020 pour causes de brûlures sévères et d'apparition de cicatrices ou encore le dispositif Ionsys® (Fentanyl) prescrit pour le traitement des douleurs post-opératoires. Ce dernier est contrôlé par le patient. Il a également été retiré du marché en Juillet 2017. En effet, ce dernier a eu des problèmes de corrosion de son système électronique ce qui pouvait entraîner un déclenchement inopiné du système iontophorétique et donc conduire à une surdose de Fentanyl [17].

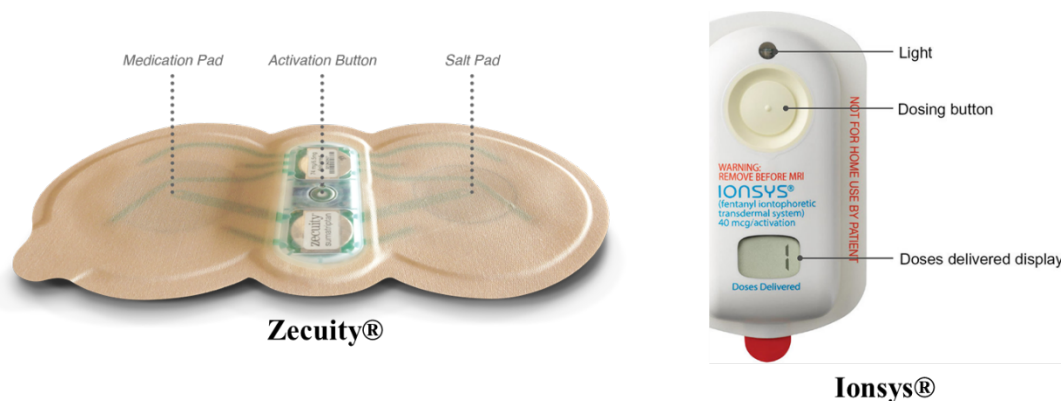


Figure 5 : Le Zecuity® et l'Ionsys®, deux patches iontophorétiques utilisés respectivement pour le traitement contre les migraines et les douleurs postopératoires [17]

L'iontophorèse comme voie d'administration de médicaments dans le systémique permet d'éviter comme il s'agit d'une technique non invasive, les complications liées à la pose d'une intraveineuse ou encore l'utilisation de seringues. En outre, la biodisponibilité semble être améliorée par rapport à une voie orale classique [18].

En usage local, l'iontophorèse permet d'augmenter la concentration en molécule active dans les micro vaisseaux de la peau tout en évitant un passage dans le systémique et donc une concentration plasmatique réduite.

La technologie iontophorétique s'est montrée particulièrement pertinente dans le traitement de plaies chroniques. Le Docteur Sylvain Kotzki a montré au cours de ses travaux de thèse que l'administration d'un vasodilatateur, le treprostinil, par microcourant se traduisait par une accélération entre le troisième et septième jour, de la cicatrisation de plaie dans un contexte de sclérodémie.

L'iontophorèse est une technologie à fort potentiel qui présente quelques limites. Comme évoqué précédemment, certaines solutions commerciales ont dû être retirées du marché pour des raisons de brûlure ou des problèmes électroniques. De plus, cette technique peut engendrer des effets secondaires comme par exemple des réactions cutanées comme des érythèmes, des dépigmentations. Il peut aussi se produire des paresthésies [1] ou encore une sensibilisation aux composants des électrodes. En outre, il est difficile de contrôler la profondeur de pénétration du médicament et de savoir si la molécule diffusée s'accumule dans une couche précise du derme.

3. Etudes *in vitro* de la diffusion de molécules actives par iontophorèse

3.1. Intérêt d'une étude *in vitro*

De manière générale, dans le développement thérapeutique, une première étape, préclinique, consiste à réaliser des expérimentations *in vivo* avant de poursuivre l'étude sur l'humain. Il s'agit de valider, dans un premier temps, les divers mécanismes d'action, d'identifier les effets physiologiques de l'absorption, l'élimination de la molécule active et d'évaluer la toxicité du médicament.

Une démarche identique a été adoptée. Des études *in vitro* sur peau d'oreille de cochon ont été effectuées faisant le parallèle avec une étude préclinique sur animal. Ces études permettent de contrôler les différents paramètres régissant la pénétration du médicament comme le courant, sa forme, la température, le pH ou encore la formulation. Ces expériences permettent donc d'optimiser au mieux ces différents paramètres avant de pouvoir mener la seconde phase qui consisterait à mener une étude *in vivo* sur animal.

3.2. Matériel mise en place et méthodes utilisées

3.2.1. La tolazoline comme molécule active pour les tests de diffusion

La tolazoline est un antagoniste non-sélectif des récepteurs α_2 adrénergiques qui est utilisé, à la fois, chez l'Homme et chez les animaux. Chez l'Homme, la tolazoline a été notamment utilisée pour traiter l'hypertension pulmonaire persistante touchant les nourrissons [19] [20] et aussi pour soigner les ulcères cutanés indolents [21].

En médecine vétérinaire, cette molécule est couramment utilisée pour inverser les effets sédatifs des agonistes α_2 adrénergiques principalement chez le cheval. Les propriétés physico-chimiques de la tolazoline sont regroupées dans le Tableau 1.

Tableau 1

Chlorhydrate de tolazoline	
Formule brute	$C_{10}H_{13}ClN_2$
Masse molaire	196,678 g/mol
pKa	10,3

Il s'agit d'une molécule de petite taille (196,678 g/mol) inférieure au chlorhydrate de lidocaïne (288 g/mol).

La molécule est donc chargée positivement à pH compris entre 5 et 7. Il s'agit donc d'un candidat idéal pour l'iontophorèse. La solubilité massique de cette molécule dans l'eau est de 373 mg/L et sa structure moléculaire est représentée à la Figure 6.

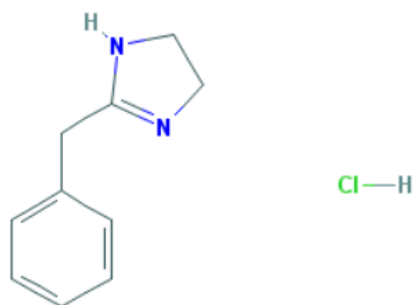


Figure 6 : Structure moléculaire du chlorhydrate de tolazoline

Cette molécule est un dérivé synthétique de l'imidazoline, de nom chimique 2-benzyl-2-imidazoline.

Le chlorhydrate de tolazoline se présente sous forme de poudre. Elle a été achetée chez Cayman Chemical (Item No. 18865).

3.2.2. Le banc de diffusion

Le banc de diffusion développé par la société Feeligreen permet de générer et de délivrer des micro-courants à travers des électrodes bipolaires dans un contexte d'expérimentations *in vitro*. Ce système s'articule de la manière suivante :

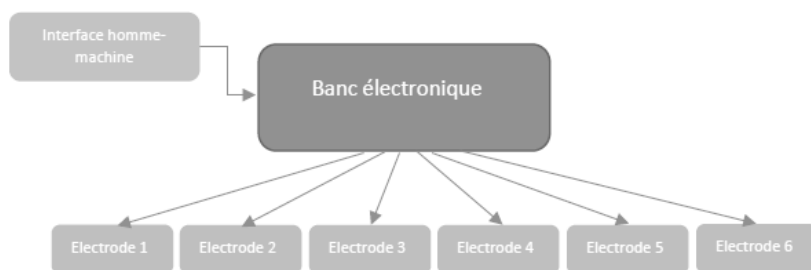


Figure 7 : Le banc électronique de diffusion développé par la société Feeligreen pour réaliser des études de diffusion *in vitro*

Ce banc est piloté via un ordinateur grâce à une interface graphique développé avec le langage WLangage sous le logiciel WinDev. Il est possible de générer des micro-courants sur six voies.

Le banc électronique est composé de six dispositifs électroniques développés par Feeligreen dans le cadre d'un projet avec un partenaire, et de deux cartes électroniques de contrôle. Nous nous intéresserons plus tard à l'architecture électronique de ces six dispositifs servant de source de courant dans le cadre de l'iontophorèse. Les deux cartes de contrôle permettent de programmer un à un chacun de ces six dispositifs en utilisant le « Serial Wire Debug », protocole utilisant deux signaux SDWIO et SWCLK permettant d'accéder à l'interface de débogage des corps ARM. Il s'agit d'une alternative au JTAG. La première d'entre elles est

composée d'un microcontrôleur PIC associé à un multiplexeur 16 voies CD74HC4067 de Texas Instrument. Elle permet de redistribuer les signaux SDWIO et SWCLK entre les six APLO en les envoyant vers la seconde carte de contrôle. Le schéma de cette carte se trouve ci-après (Figure 8).

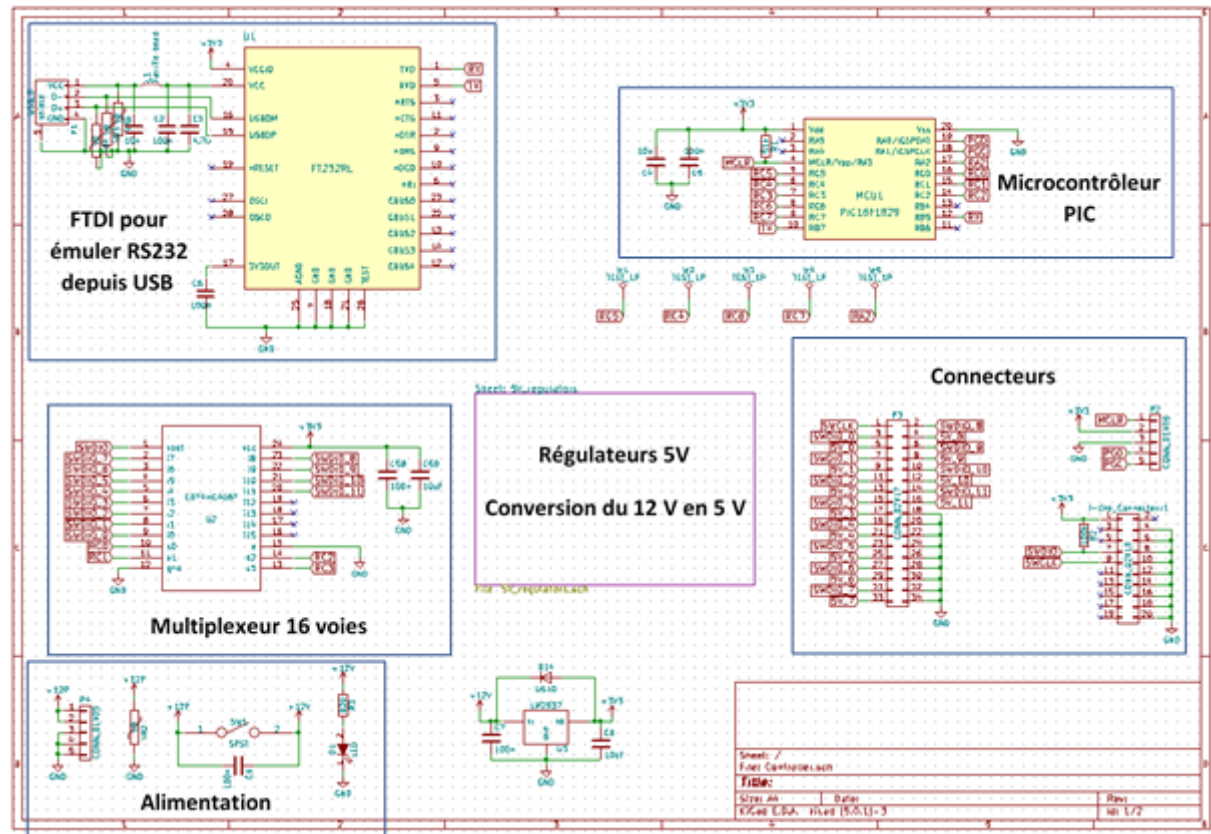


Figure 8 : Schéma de la première carte de contrôle du banc de diffusion permettant la programmation de chacun des dispositifs iontophorétiques

La seconde carte électronique de contrôle permet d'établir une connexion entre les dispositifs électroniques servant de source de courant pour réaliser l'iontophorèse et la première carte électronique à travers une nappe flexible (connexion entre la première et la deuxième carte) et des plots de contact à ressort (connexion entre la deuxième carte et les dispositifs électroniques pour les signaux SWDIO et SWCLK). Enfin, les micro-courants générés qui ont été préalablement configurés sont envoyés aux électrodes via des connecteurs jack.

Les deux photographies ci-après présentent l'intérieur du banc de diffusion avec les deux cartes de contrôle et les six dispositifs iontophorétiques.

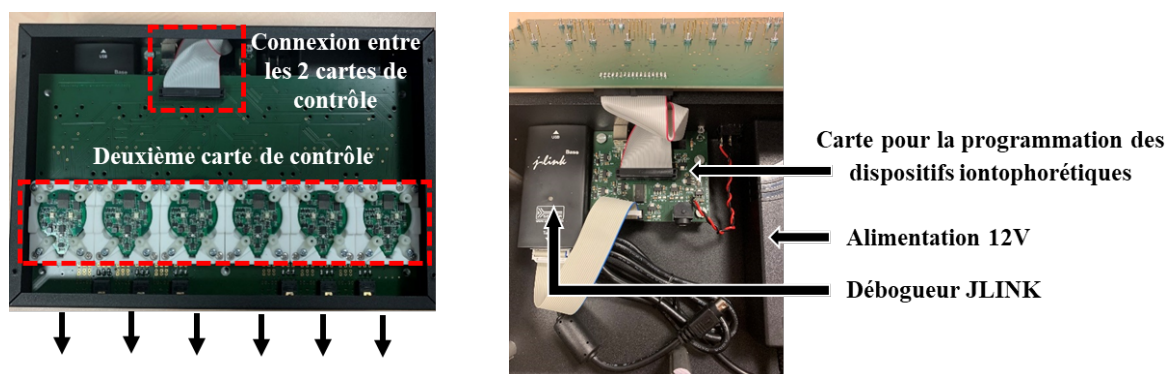


Figure 9 : Banc de diffusion composé de deux cartes de contrôle et de six dispositifs iontophorétiques

Le dispositif électronique d'iontophorèse s'articule autour du module ISP130301 BLE (Bluetooth Low Energy) en version 4.2 avec un microcontrôleur ARM Cortex M0 (Module Low Power). Ce module tout en un basé sur le nRF51 de Nordic Semiconductor® est un choix appréciable dans le cadre du développement d'un produit grand public. Le but du dispositif iontophorétique est de faciliter la pénétration d'actif à travers la peau grâce à l'iontophorèse, technique basée sur l'utilisation d'un micro-courant. Ce dernier circule entre les pôles + et – des électrodes à travers la peau. Ce courant est monitoré et régulé en permanence pour s'adapter à l'impédance de la peau. L'intensité de ce courant ainsi que son profil sont configurables. Il est possible de créer des courants pulsés ou continus.

Afin d'administrer des molécules actives via microcourant, il faut pouvoir réguler ce dernier quel que soit l'impédance de la peau. L'électronique doit permettre d'élever la tension de la batterie qui est généralement de 3,8 V. Un convertisseur boost permet d'élever cette tension jusqu'à 80 V. La fréquence de ce boost est de 100 kHz.

La source de courant programmable est constituée de deux parties (Figure 9). La première celle en entrée comprend un convertisseur numérique analogique (CNA) 8 bits DAC081S101 de Microchip ainsi qu'un amplificateur opérationnel. Cette première partie permet de piloter le transistor NMOS. Elle permet aussi de moduler la tension appliquée à la résistance de 510 Ω . La seconde consiste en un transistor MOS à canal N qui permet de générer le courant en réponse au mot digital fourni par le microcontrôleur. En outre, ce transistor permet de fournir plus de courant que la sortie de l'amplificateur opérationnel associée à une seule résistance. La résistance de 510 Ω produit le courant avec la tension appliquée à ses bornes. Le transistor régule ce courant.

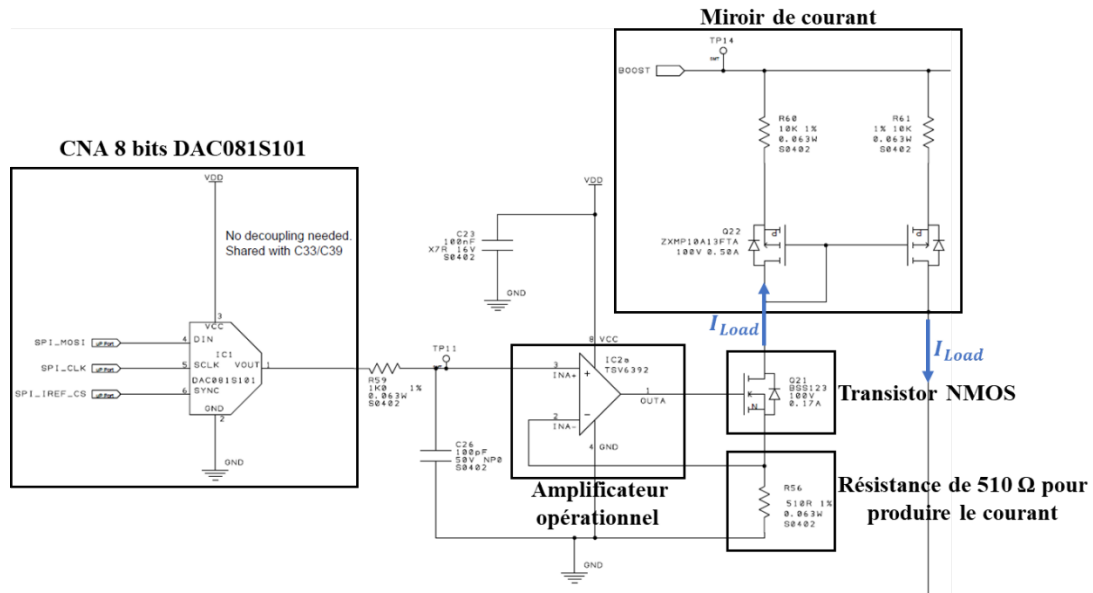


Figure 10 : Source de courant programmable. Elle s'articule autour d'un convertisseur analogique numérique servant à convertir les instructions digitales du microcontrôleur en tension

Cette source de courant offre une grande variété dans la forme et l'intensité des microcourants. Le courant de charge I_{Load} est donnée par l'équation suivante :

$$I_{Load} = - \frac{D \times V_{in}}{R_1 \times \left(1 + \frac{R_1}{R_{CNA}}\right)} \quad (4.8)$$

Dans l'expression (4.8), D représente la fraction du mot digital provenant du microcontrôleur et chargé dans le CNA. Cependant, généralement $R_{CNA} \gg R_1$; ainsi, le courant peut être approximé par :

$$I_{Load} = - \frac{D \times V_{in}}{R_1} \quad (4.9)$$

Dans le dispositif iontophorétique, avec $R_1 = 510 \, \Omega$ et $V_{in} = 3,3 \, V$, le courant I_{Load} varie entre 0 et 6,5 mA avec une résolution de 25,4 μA .

Un miroir de courant permet ensuite de recopier le courant généré I_{Load} . Ensuite ce courant traverse un pont en H qui est constitué de deux transistors NMOS BSS123 et de deux transistors PMOS ZXMP10A13FTA. Ce pont permet d'inverser le sens du courant (Figure 11).

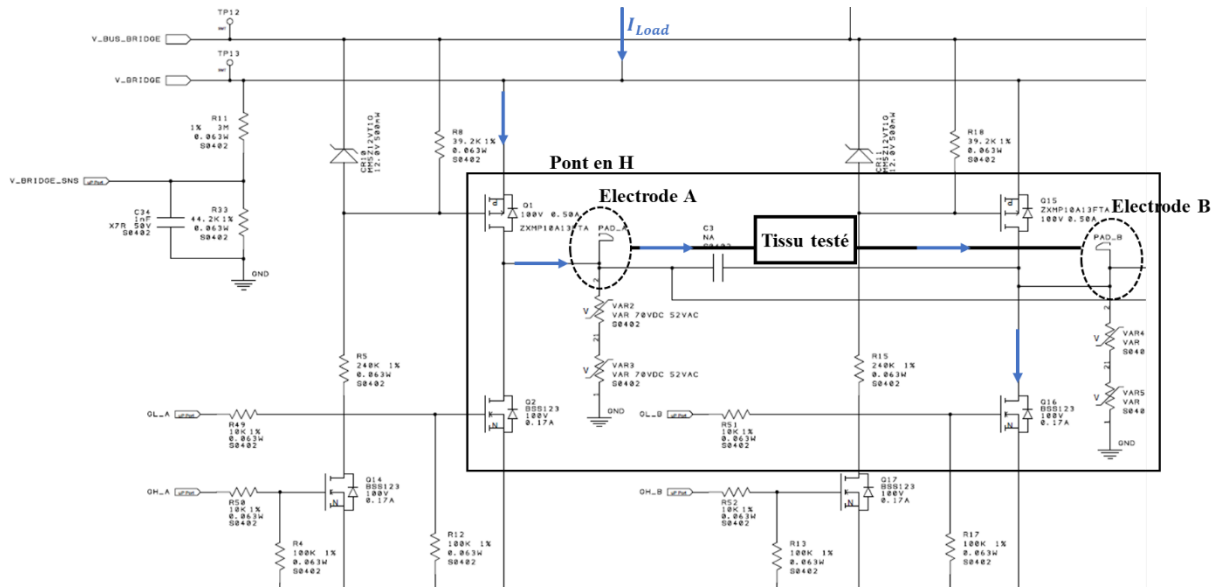


Figure 11 : Pont en H permettant d'inverser la polarité du courant I_{Load} dans le tissu testé. Cela permet non seulement de pouvoir administrer des molécules avec des charges opposées mais aussi de pouvoir inverser le courant en cas de changement de pH trop brutale.

Pour pouvoir assurer un asservissement en courant quelle que soit l'impédance de la peau, il faut pouvoir connaître le courant traversant le tissu placé entre les deux pôles des électrodes flexibles et ajuster la tension du convertisseur boost en conséquence.

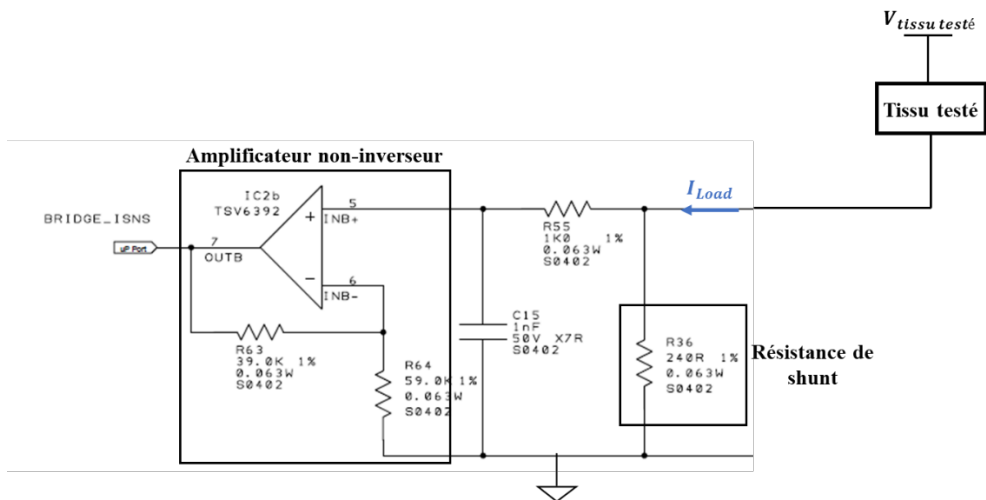


Figure 12 : Circuit permettant de mesurer le courant traversant la peau lors du traitement iontophorétique. Il est constitué d'une résistance de shunt associée à un amplificateur non-inverseur

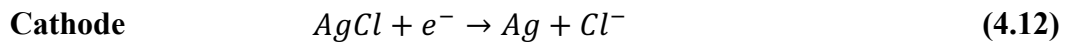
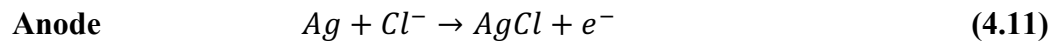
Cette mesure est réalisée à l'aide d'une résistance de shunt de 240 Ω associée à un amplificateur non-inverseur (Figure 12). L'équation suivante décrit la fonction de transfert (V_{out} désigne la tension de sortie de l'amplificateur opérationnel) :

$$V_{out} = I_{Load} \times R_{SHUNT} \times Gain \quad (4.10)$$

Le gain est égal à $1 + \frac{R_{63}}{R_{64}}$. La résistance R_{63} vaut 39 kΩ et R_{64} est égale à 59 kΩ. Cela donne donc un gain de 1,66. La tension est, ensuite, mesurée par l'ADC du microcontrôleur.

3.2.3. Les électrodes Ag/AgCl couvertes de carbone

Les électrodes classiquement utilisées en iontophorèse sont des électrodes à Ag/AgCl car elles résistent au changement de pH. La réaction typique se produisant à l'anode et la cathode sont respectivement :



Un électron est libéré dans le circuit. De plus, du chlorure d'argent insoluble précipite à la surface de l'anode.

Les électrodes en Ag/AgCl sont recouvertes d'une couche de carbone afin de préserver l'intégrité et la conductivité électrique sur de longues périodes de traitement, plusieurs heures comme cela peut être le cas pour certaines molécules médicales comme le patch Zecuity® au sumatriptan avec quatre heures de traitement.

Ces électrodes sont bipolaires et ont la forme suivante :

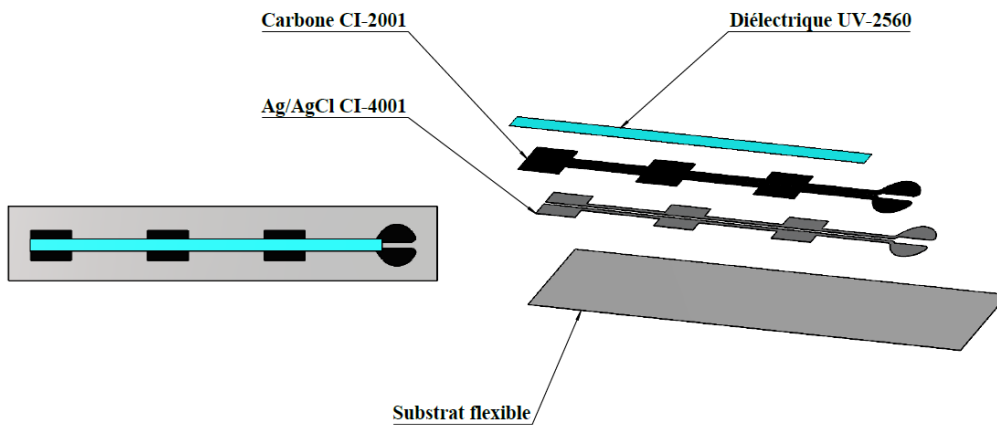


Figure 13 : Électrodes de diffusion

Chacun des pôles de ces électrodes ont une surface de 3 cm².

Les différentes couches de matériaux sont déposées sur un substrat plastique flexible en poly(téréphtalate d'éthylène) (PET) d'une épaisseur de 75 μm thermostabilisé (TORAY Lumirror® 60.28). Deux couches de polyester à forte rugosité recouvrent le PET. Mécaniquement, il peut subir une rétractation lorsqu'il est exposé à une température de 150°C pendant 30 minutes (test ASTM D1204: 1,2 % (MD) et 0,5 % (TD)).

La technique d'impression utilisée est la sérigraphie.

Les feuilles de PET sont, par précaution, préalablement chauffées à 130 °C pendant trois minutes. Le premier dépôt est constitué d'une couche d'encre Ag/AgCl CI-4001 d'EMS. Elle est notamment indiquée dans l'impression d'électrodes pour un usage médical. Le ratio d'Ag : AgCl est de 45 : 55 typiquement utilisé pour les électrodes d'iontophorèse. Une épaisseur de 20 µm est déposée pendant ce processus de fabrication. L'encre est recuite pendant 3 minutes à une température de 130 °C.

Une couche de carbone CI-2001 d'EMS recouvre la couche d'Ag/AgCl. Sa résistance électrique est strictement inférieure à 20 Ω par carré pour une épaisseur de 25,4 µm. Elle dépasse de 700 µm de part et d'autre de cette couche. Une épaisseur de 20 µm est déposée par sérigraphie. L'encre est recuite à une température de 110 °C pendant 3 minutes.

Enfin, une couche d'encre diélectrique UV-2560 de Conductive Compounds est déposée sur les lignes de connexion pour éviter les court-circuit. Elle est recuite par UV avec une énergie de 2 J pendant 1 minute et trente secondes.

3.2.4. La cellule de Franz

Les cellules de Franz permettent d'évaluer la perméabilité de la peau et la diffusion d'actifs à travers celle-ci. Elles renseignent sur la cinétique de pénétration du médicament, qui est déposé à la surface de la peau, à travers les différentes couches de la barrière cutanée [22]. Au-delà de cet aspect purement cinétique, elles sont très utiles, non seulement, dans la conception et le développement de nouvelles formulations mais aussi pour filtrer les molécules toxiques [23] et réaliser des contrôles qualité [24]. Ces cellules sont normalement utilisées avec de la peau d'animal ou humaine excisée [25].

Les cellules de Franz utilisées ont été développées spécifiquement par Feeligreen. Elles sont constituées de deux parties principales :

- Un compartiment donneur avec un couvercle
- Un compartiment receveur avec le bras

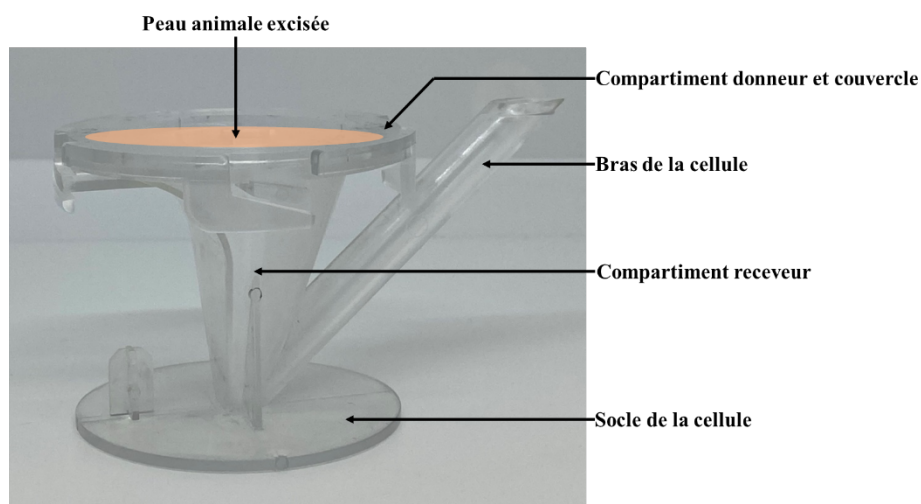


Figure 14 : Cellule de Franz spécifique utilisée dans les études de diffusion *in vitro*

Dans le compartiment donneur se trouve l'actif étudié. Le compartiment récepteur contient le liquide récepteur. Il s'agit de tampon phosphate salin (PBS *Phosphate Buffered Saline*) provenant de Sigma Aldrich® (réf. P3813-10PAK). Ce dernier est introduit avant l'étude *in vitro*. Il permet de mimer le compartiment sanguin.

La surface de diffusion est de 11,37 cm². Le volume du liquide récepteur est de 19 mL $\pm$ 1 mL.

Un échantillon de peau est monté dans le compartiment donneur et est maintenu tendu à l'aide du couvercle. Un aimant est placé dans le fond du compartiment receveur permettant une agitation permanente du liquide récepteur pendant l'administration du médicament. Les cellules de Franz sont maintenues à une température de 37 °C grâce à un bain marie. Cette température correspond à celle du compartiment sanguin.

3.2.5. Protocoles

L'élaboration des protocoles expérimentaux se basent à la fois sur une étude de la littérature mais également sur l'expérience acquise par la société Feeligreen tout au long de ces projets avec de grandes entreprises comme L'Oréal ou Galderma.

Les oreilles de porc proviennent d'un abattoir. Ces dernières sont prélevées avant l'échaudage de l'animal afin de préserver au maximum l'intégrité des tissus. Ces oreilles sont ensuite congelées à une température de -18 °C. Elles sont conservées à cette température au sein de notre laboratoire.

La peau d'oreille porcine est découpée du cartilage à l'aide d'un scalpel puis montée sur une cellule de diffusion. A l'intérieur de cette cellule sont versés, au préalable, environ 20 ml de PBS qui jouent le rôle de liquide récepteur ; un petit barreau magnétique est placé au fond de la cellule. L'absence de bulles d'aires entre la peau et le liquide récepteur est vérifiée.

Pour chaque manipulation mettant en exergue l'effet du courant sur la pénétration du médicament dans la peau, plusieurs cellules avec dispositif (AD) et sans dispositif (SD), c'est-à-dire passif, ont été disposées en parallèle sur une plaque magnétique au fond d'un bain-marie à une température de 37 °C, comme indiqué dans la partie précédente, permettant de maintenir une agitation en faisant tourner le barreau magnétique situé au fond de la cellule à 1000 tours par minute (Figure 15).



Figure 15 : Bain-marie permettant de maintenir le liquide récepteur à une température de 37 °C. Au fond de ce bain-marie, se trouve une plaque magnétique pour maintenir une agitation du liquide récepteur pendant les manipulations in vitro. Sur le haut, les électrodes coupées correspondent aux cellules sans dispositif (SD).

Un gel à 2 % de tolazoline est utilisé pour les études de diffusion. Il se compose d'eau déionisée, de 2 % de gélifiant (Makimousse 12 de Daito Kaisei), le sodium polyacrylate starch, et de 2 % de tolazoline.

Si les réservoirs du médicament utilisés pendant les études de diffusion sont du non-tissé, alors une solution à base d'eau contenant 2 % de tolazoline est employée.

Les diverses étapes de la procédure expérimentale utilisée lors des tests *in vitro* sont détaillées ci-après.

Les oreilles de cochon sont, tout d'abord, mises à décongeler pendant une heure maximum. Elles sont ensuite rincées à l'eau claire pour enlever toutes traces de terre ou de sang. La peau est ensuite excisée du cartilage de l'oreille à l'aide d'un scalpel. Elle est, par la suite, montée sur la cellule de Franz de la Figure 14 et est maintenue tendue grâce au couvercle.

Le compartiment récepteur de la cellule de Franz est ensuite rempli avec 19 mL de tampon phosphate salin en prenant garde d'enlever toute bulle d'air. En effet, cela pourrait empêcher le passage de principe actif. Ces cellules sont ensuite déposées sur la plaque magnétique au fond du bain-marie qui est à la température de 37 °C.

Après cette étape, 1,5 g de gel à 2 % de tolazoline est déposé sur chacun des pôles des électrodes. Si les compartiments donneurs sont des non tissés alors une pipette permet de les imbiber avec 1,5 mL de solution à 2 % de tolazoline.

Les électrodes des tests AD sont ensuite reliées au banc de diffusion via des connecteurs de type mâchoire (Figure 16).



Figure 16 : Le banc de diffusion est contrôlé via une interface graphique permettant de régler la forme, l'intensité du courant ainsi que la durée du traitement. En outre, les électrodes sont reliées au banc via des connecteurs de type mâchoire.

Les différentes voies du banc de diffusion sont, ensuite, configurées via l'interface graphique de l'ordinateur de contrôle (type et intensité du courant, temps de traitement). On démarre, ensuite, la diffusion. Une minuterie permet d'arrêter automatiquement la voie une fois le traitement terminé.

Lorsque la diffusion est terminée, une des cellules de Franz est retirée du bain-marie. L'électrode de diffusion est décollée de la peau. Le pH des compartiments donneur (non-tissé ou gel) est mesuré. Le surplus de gel se trouvant sur la peau d'oreille de cochon est retiré avec un papier absorbant. La totalité des 19 mL du liquide récepteur est prélevée.

La peau est nettoyée, deux fois, avec 5 mL d'eau puis séchée avec des mouchoirs secs et propres. La zone traitée est délimitée avec un marqueur. Une partie du *stratum corneum* est, par la suite, enlevée avec du scotch afin d'éliminer d'éventuels restes de formulation. Trois morceaux de scotch sont appliqués horizontalement et trois autres verticalement. La zone traitée délimitée est découpée en petits morceaux carrés d'environ 0,5 cm de côté.

Ces morceaux de peau sont, subséquentement, introduits dans des flacons. Cinq millilitres de solvant d'extraction sont ajoutés dans ces derniers. Le choix s'est porté sur le tampon phosphate salin (PBS).

Ces flacons sont mis à agiter sur un plateau pendant 4 h à 350 tours par minutes.

Enfin, les échantillons de peau ainsi que le liquide récepteur sont filtrés au travers de membranes en nylon avec une maille de 45 μm .

Ce protocole post diffusion *in vitro* peut se découper en 3 grandes étapes :

- **Nettoyage de la peau**

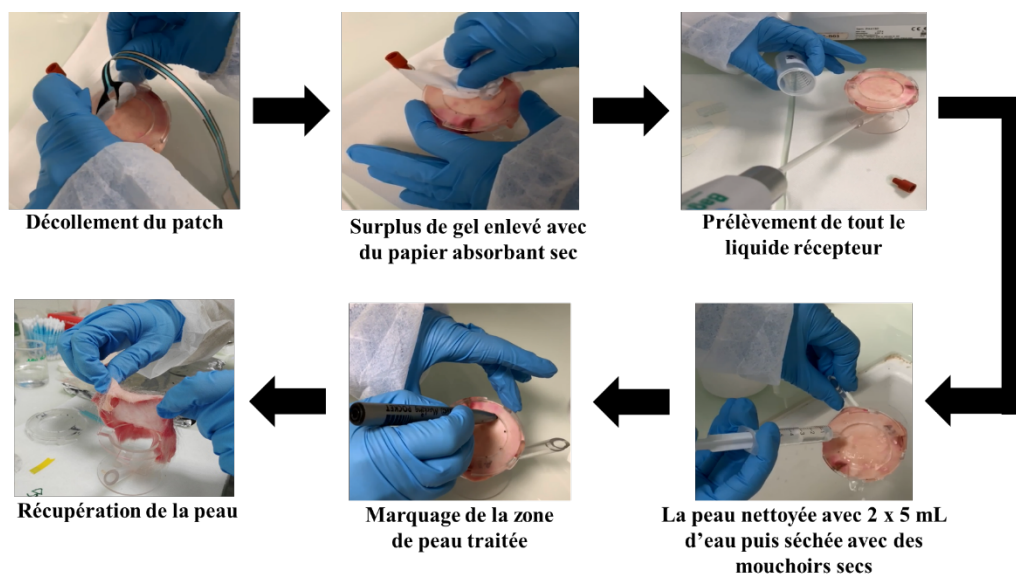


Figure 17 : Etapes décrivant le nettoyage de la peau une fois l'administration du médicament terminée. La peau est nettoyée, le liquide récepteur est prélevé et la zone d'intérêt est marquée.

- **Tape stripping et découpe de la zone de peau traitée**

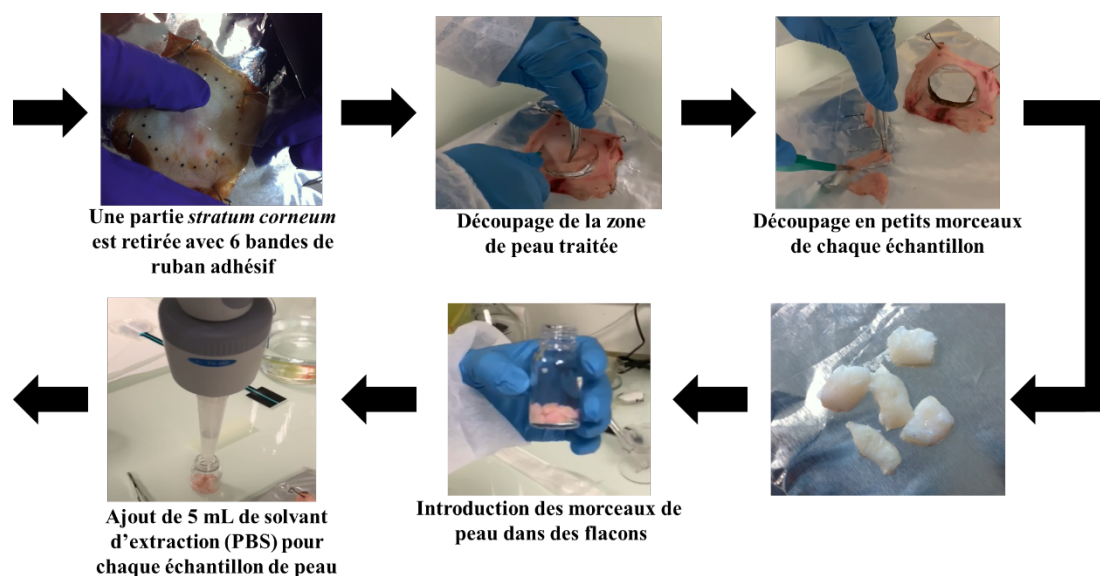


Figure 18 : Etapes présentant la préparation des échantillons de la zone de peau traitée pour l'extraction par solvant.

- **Extraction par solvant des morceaux de la zone de peau traitée**

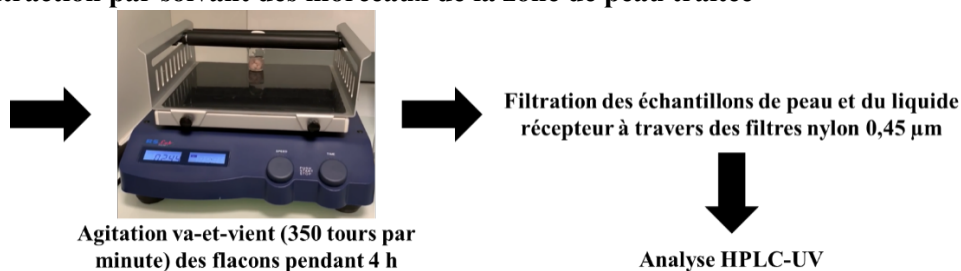


Figure 19 : Extraction du médicament avec du PBS, des morceaux de peau de la zone traitée

3.2.6. Méthode de dosage de la tolazoline

La dernière étape des études de diffusion *in vitro* est de caractériser la quantité de tolazoline se trouvant dans la peau ou l'ayant traversé. Pour cela, un Chromatographe en phase Liquide à Haute Performance (HPLC) Alliance e2695 de Waters couplé à un détecteur spectrophotomètre UV 2998 PDA est utilisé (Figure 20).



Figure 20 : Système d'analyse HPLC

Ce type de chromatographie est une technique de séparation analytique de produits présents dans un mélange. Le principe de cette technique repose sur le fait que le mélange à traiter est entraîné à haute pression dans une colonne par un mélange appelé phase mobile. Cette phase est souvent composée d'un mélange d'eau et de solvants organiques miscibles comme le méthanol. La phase stationnaire se trouve dans la colonne. Cette dernière est généralement composée de particules de très petite taille (quelques micromètres).

A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté dans la colonne. Il se dilue, alors, dans la phase mobile qui l'entraîne jusqu'à la colonne. Le choix de la phase stationnaire est décisif. En effet, les constituants du mélange sont inégalement retenus lorsqu'ils traversent la colonne. Ce phénomène est appelé rétention. Ainsi, les constituants du mélange injectés se déplacent moins vite que ceux de la phase mobile. Cette vitesse de déplacement est différente pour chacun des éléments constituant le mélange injecté. Ces derniers subissent une élution les uns après les autres et sont donc, finalement, séparés.

Un détecteur est placé à la sortie de la colonne et est couplé à un enregistreur. Ceci permet d'obtenir un chromatogramme.

Le détecteur dirige un signal constant vers l'enregistreur en présence de la phase mobile seule afin de définir la ligne de base. Au passage de chaque constituant du mélange injecté, un pic apparaît sur le chromatogramme.

Le temps de rétention représente le temps au bout duquel un composé est élué de la colonne puis détecté.

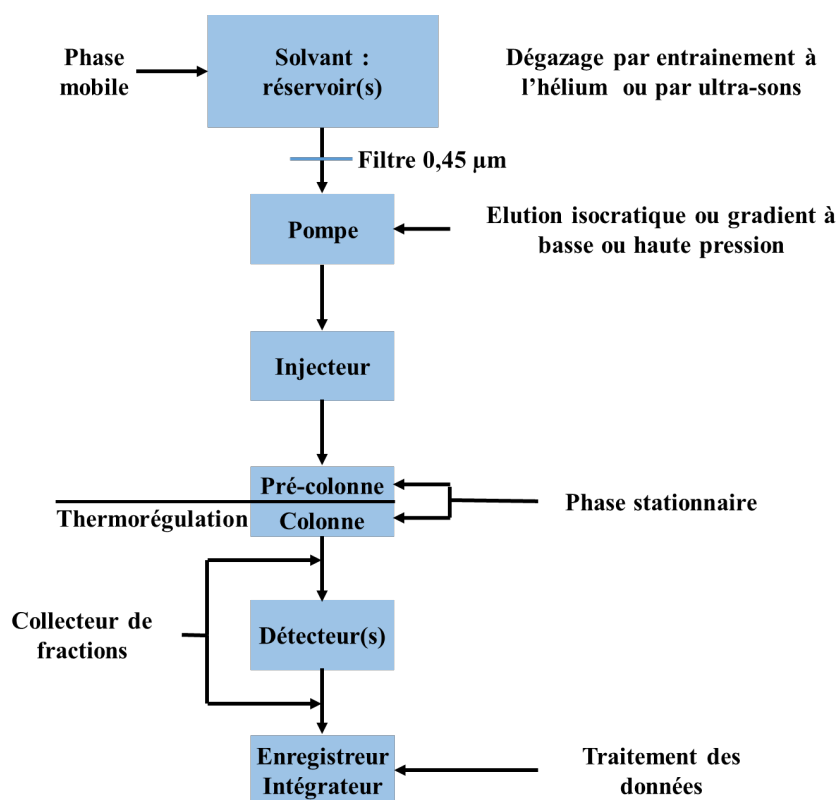


Figure 21 : Schéma synoptique d'un système de chromatographie en phase liquide

La Figure 21 présente le schéma de principe d'un chromatographe en phase liquide. Les éléments de base d'un tel système sont :

- Un détecteur permettant de mettre en exergue la sortie des solutés de la colonne et de déterminer la quantité de chaque soluté d'un mélange
- Une colonne en acier inoxydable de quelques centimètres de long
- Un système d'injection calibré
- Un ou plusieurs réservoirs de phase mobile contenant soit des solvants purs ou des mélanges de ces derniers dans des concentrations variables

L'utilisation pour l'analyse HPLC d'un solvant pur ou d'un mélange de solvants de composition constante dans le temps correspond à une étude en mode isocratique. Si cette composition est variable dans le temps alors cela correspond à une étude en mode gradient.

Pour pouvoir déterminer la concentration de tolazoline dans les échantillons de diffusion, il est nécessaire d'établir une courbe de calibration ou d'étalonnage relative.

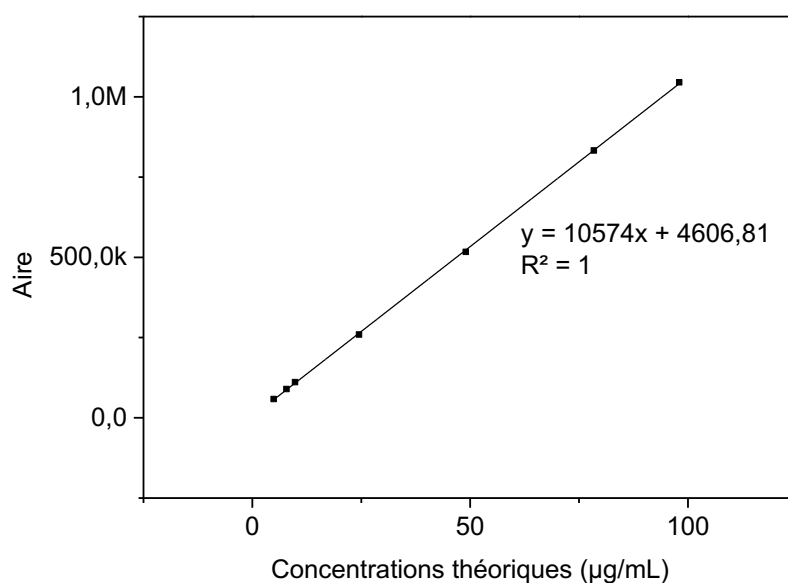


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la tolazoline

La droite de calibration de la Figure 22 permet de remonter à la concentration (µg/mL) en tolazoline à partir des aires du chromatogramme via l'équation :

$$x = \frac{y - 4606,81}{10574} \quad (13)$$

Les conditions utilisées pour le dosage et l'identification de la tolazoline sont regroupées dans le Tableau 2.

Tableau 2

Solvant utilisé pour la préparation des solutions mères et standards	PBS en contact avec peau pendant 4h
Domaine de linéarité validé	De 5 à 100 µg/mL
LOQ / LOD	LOQ = 5 µg/mL / LOD = 0,5 µg/mL
Filtre validé	Filtre Seringue Titan 0 / 45 µm Nylon 17 mm
Colonne	ACE Equivalence 5 C18, 4,6x250 mm, 5 µm
Précolonne	SecurityGuard Cartridge C18 4x3mm ID
Température de la colonne	25°C

Débit (mL/min)	1
Volume d'injection (μL)	10
Temps d'analyse (min)	20
Phases mobiles	Phase 1 : eau + 0,1 % acide trifluoroacétique Phase 2 : méthanol + 0,1 % acide trifluoroacétique
Mode isocratique	Phase 1 / Phase 2 (85/15 v/v)
Temps de rétention (min)	14 min
Longueur d'onde acquisition (nm)	230

3.3. Analyse des résultats et discussion

Le but de cette étude *in vitro* est, tout d'abord, d'étudier la pénétration de la molécule tolazoline en optimisant les paramètres du traitement iontophorétique : durée, forme du courant, densité ou encore le type de réservoir du médicament.

La tolazoline a été, d'abord, formulée dans un gel. Ce dernier ne doit pas être irritant, facile à formuler. Il est composé de 2% de tolazoline, de 2% de gélifiant de type polyacrylate de sodium (Makimousse 12 DAITO KASEI) et de 96 % d'eau distillée. Cette concentration en chlorhydrate de tolazoline est particulièrement indiquée pour le traitement d'ulcères cutanés indolents. En effet, le flux sanguin augmente localement. La cicatrisation est stimulée en inhibant la contraction vasculaire des muscles [21]. Sa viscosité et sa conductivité s'adaptent parfaitement à un traitement par iontophorèse.

En outre, ce médicament est avantageux car peu coûteux comparé à d'autre molécule.

Les premiers essais ont été menés avec un courant continu de 500 μA (167 μA/cm²) et 1h. Il s'agissait de s'assurer d'être en mesure de détecter par HPLC la molécule de tolazoline. Ces tests ont été réalisés avec (AD) et sans courant (SD) respectivement sur 10 cellules. La quantité moyenne diffusée dans la peau et dans le liquide récepteur avec et sans courant est présentée à la Figure 23.

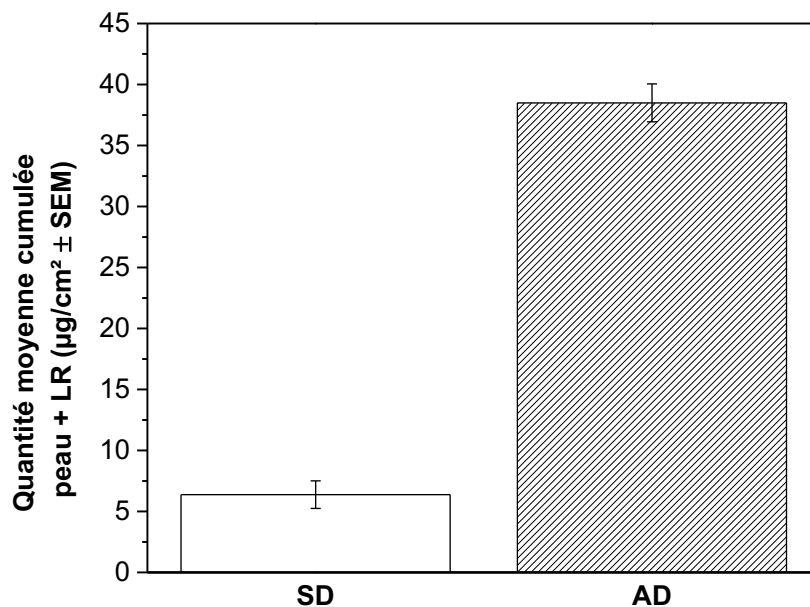


Figure 23 : Passage moyen de tolazoline sans courant (SD) et avec un courant (AD) continu de 500 μA pendant 1 h

Tableau 3

Nombre de répliquas	Courant	Total pénétré sans courant (SD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Total pénétré avec courant (AD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Rapport AD/SD
10	500 μA continu 1 h			
Moyenne		6,38	38,49	6,03
Ecart-type		$\pm 1,13$	$\pm 1,55$	

Le rapport obtenu entre AD et SD est de 6 (Tableau 3). Les électrodes bipolaires utilisées pendant ces diffusions sont restées stables. Il n'y a pas eu de changement de pH. Les quantités diffusées avec et sans courant sont significativement différentes (ANOVA à un facteur $P < 0,001$).

Afin d'augmenter le confort du futur patient, le courant a été abaissé à 250 μA (83 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$). La durée du traitement a été augmentée à 2 h afin de conserver une quantité de courant équivalente (1,8 C).

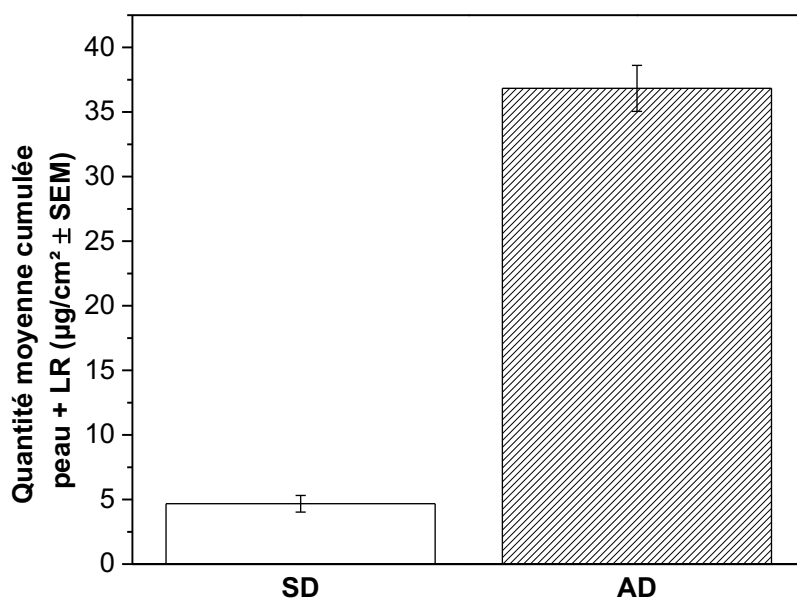


Figure 24 : Passage moyen de tolazoline sans courant (SD) et avec un courant (AD) continu de 250 μA pendant 2 h

Tableau 4

Nombre de répliques	Courant	Total pénétré sans courant (SD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Total pénétré avec courant (AD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Rapport AD/SD
8	250 μA continu 2 h			
Moyenne		4,67	36,84	7,89
Ecart-type		$\pm 0,64$	$\pm 1,78$	

L'iontophorèse améliore le passage transdermique de la tolazoline d'un facteur 7,89 par rapport à une diffusion passive (Tableau 4). Après 2 h de traitement, aucun changement de pH n'a été constaté au niveau des pôles des électrodes. Les quantités diffusées avec et sans courant sont significativement différentes (ANOVA à un facteur $P < 0,001$).

La quantité moyenne totale de tolazoline diffusées avec un courant continu de 500 μA pendant une heure est équivalente à celle obtenue avec un courant continu de 250 μA pendant deux heures. Le temps de traitement peut être augmenté tout en réduisant la densité de courant égale respectivement à 167 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ et 83 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ pour 500 μA et 250 μA .

Le courant a, ensuite, été augmenté afin de réduire le temps de traitement. Un courant continu de 750 μA (250 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$) est appliqué pendant 30 minutes. Ces tests ont été réalisés avec (AD) et sans courant (SD) respectivement sur 5 cellules. La quantité moyenne diffusée dans la peau et le liquide récepteur avec et sans courant est présentée dans le diagramme Figure 25.

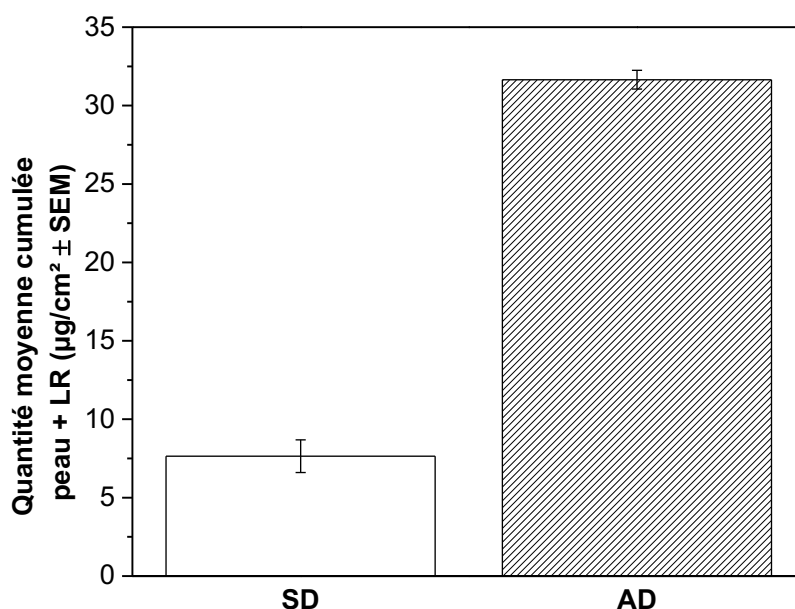


Figure 25 : Passage moyen de tolazoline sans courant (SD) et avec un courant (AD) continu de 750 μA pendant 0,5 h

Tableau 5

Nombre de réplicas	Courant	Total pénétré sans courant (SD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Total pénétré avec courant (AD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Rapport AD/SD
5	750 μA continu 0,5 h			
Moyenne		7,64	31,65	4,14
Ecart-type		$\pm 1,04$	$\pm 0,60$	

Le passage transdermique de la molécule a été amélioré d'un facteur 4,14 avec un courant de 750 μA appliqué pendant trente minutes (Tableau 5). Les quantités diffusées avec et sans courant sont significativement différentes (ANOVA à un facteur $P < 0,001$). La quantité de tolazoline diffusée avec ce courant continu est légèrement inférieure à celles obtenues avec les courants continus de 250 μA et 500 μA . En effet, la quantité de charge pour le courant de 750 μA pendant trente minutes est de 1,35 C contre 1,8 C pour les deux autres manipulations.

L'utilisation persistante d'un courant continu direct proportionnel au temps peut réduire l'efficacité du transport iontophorétique à cause notamment de la polarisation de la peau qui est orientée dans la direction opposée à l'application du champ. La peau se comporte comme un condensateur dans un circuit électrique de sorte que le courant effectif diminue avec la durée d'application du courant continu [26] [27] [28]. Pour éviter ces problèmes, des courants pulsés continus ont été largement utilisés.

Dans cette optique, nous avons fait le choix de tester un courant direct pulsé de $500\ \mu\text{A}$. La fréquence de ce courant est de $1\ \text{kHz}$. Le rapport cyclique est de $0,5$ (Figure 26).

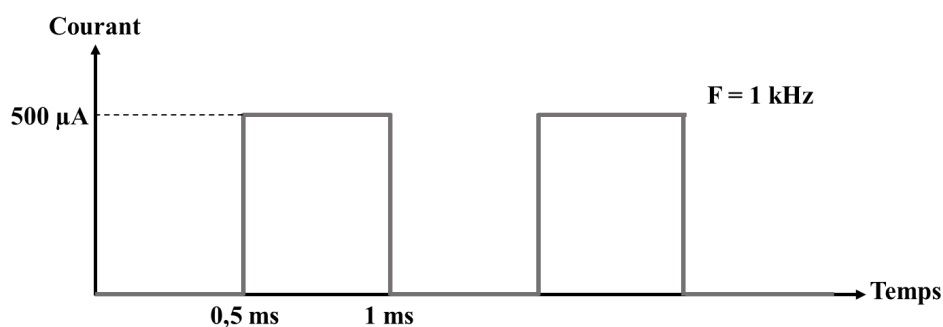


Figure 26 : Courant pulsé continu de $500\ \mu\text{A}$ de fréquence $1\ \text{kHz}$ avec un rapport cyclique de $0,5$

Ce courant est appliqué sur la peau pendant une heure.

Des tests ont été menés sur cinq cellules. La quantité moyenne diffusée dans la peau et le liquide récepteur avec et sans courant est présentée dans l'histogramme suivant (Figure 27).

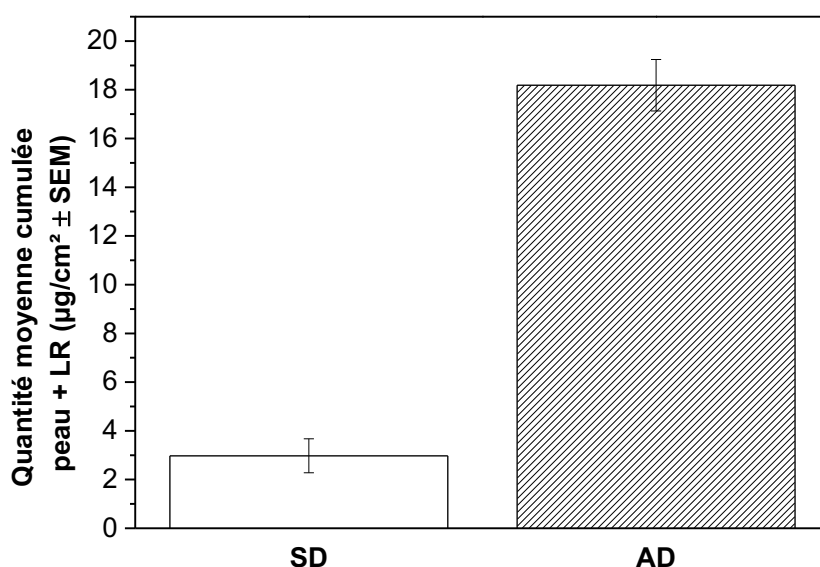


Figure 27 : Passage moyen de la molécule de tolazoline sans courant (SD) et avec courant direct (AD) pulsé de $500\ \mu\text{A}$ de fréquence $1\ \text{kHz}$ et de rapport cyclique $0,5$

Les résultats de cette étude sont regroupés dans le Tableau 6 :

Tableau 6

Nombre de répliques	Courant	Total pénétré sans courant (SD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Total pénétré avec courant (AD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Rapport AD/SD
5	500 μA pulsé 1 h			
Moyenne		2,97	18,19	6,12
Ecart-type		$\pm 0,70$	$\pm 1,06$	

Le passage de la molécule de tolazoline à travers la peau a été amélioré d'un facteur 6 avec un courant pulsé direct de 500 μA appliqué pendant une heure. Les quantités diffusées avec et sans courant sont significativement différentes (ANOVA à un facteur $P < 0,001$). En outre, la quantité totale de tolazoline diffusée dans la peau et dans le liquide récepteur est deux fois moins importante qu'avec les deux précédents courants continus de 250 μA et de 500 μA (Figure 28). En effet, la quantité de charge est deux fois moins importante avec le courant pulsé : 1,9 C pour les deux courants continus et 0,9 C pour le courant pulsé.

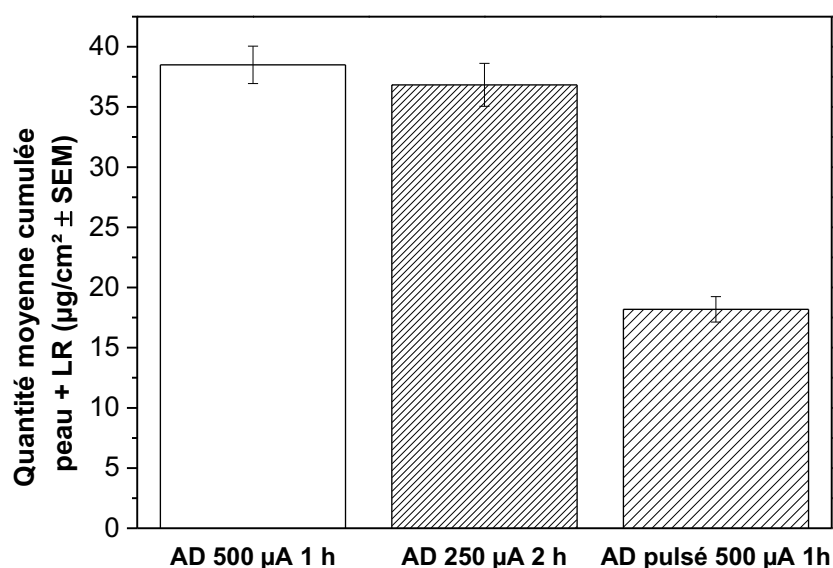


Figure 28 : Comparaison des quantités totales de tolazoline pour deux courants continus de 500 μA et 250 μA appliqués respectivement 1 h et 2 h et pour un courant pulsé de 500 μA de fréquence 1 kHz pendant 1 h

Un récapitulatif des divers résultats obtenus lors de ces différentes manipulations évoquées précédemment est donné dans le Tableau 7 :

Tableau 7

Nombre de répliquas	Courant	Total pénétré sans courant (SD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Total pénétré avec courant (AD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Rapport AD/SD
10	500 μA continu 1 h	6,38	38,49	6,03
8	250 μA continu 2 h	4,67	36,84	7,88
5	750 μA continu 0,5 h	7,64	31,65	4,14
5	500 μA pulsé 1 h	2,97	18,19	6,11

La quantité pénétrée de tolazoline la plus importante est obtenue avec les courants de 500 μA et 250 μA pendant 1 h et 2 h avec 38,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ et 36,8 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. En outre, nous avons constaté qu'avec un courant plus important de 750 μA et un temps réduit d'une demi-heure une quantité sensiblement équivalente (31,65 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) de tolazoline a été diffusée dans les explants de cochon. En outre, en extrapolant par rapport à la quantité de courant, nous devrions obtenir une quantité totale de 36 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ sans noter une amélioration par rapport au courant continu de 500 μA .

Afin de pouvoir mener de futures manipulations *in vivo*, un réservoir pour le médicament de type non tissé de Kemex® fabricant néerlandais de non-tissés et de laminés médicaux a été utilisé. En outre, ce réservoir permet de stocker des solutions liquides.

Le premier courant testé avec ce type de réservoir est un courant continu de 500 μA appliquée sur la peau d'oreille de cochon positionnée sur une cellule de Franz pendant 1 h. Les non-tissés sont imbibés avec une solution composée d'eau déionisée et 2 % de tolazoline.

La quantité moyenne diffusée dans la peau et le liquide récepteur avec et sans courant est présentée dans l'histogramme suivant (Figure 29).

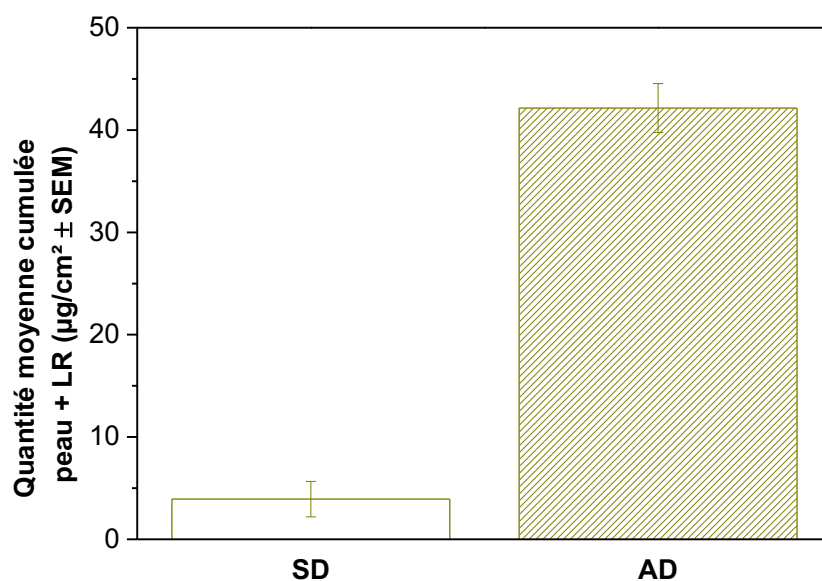


Figure 29 : Passage moyen de la molécule de tolazoline sans courant (SD) et avec courant direct (AD) continu de 500 μ A appliqué pendant 1 h avec comme réservoir le non-tissé

Tableau 8

Nombre de réplcas	Courant	Total pénétré sans courant (SD) (μ g/cm ²)	Total pénétré avec courant (AD) (μ g/cm ²)	Rapport AD/SD
2	500 μ A 1 h			
Moyenne		3,93	42,15	10,73
Ecart-type		$\pm 1,73$	$\pm 2,39$	

Le passage de tolazoline est amélioré d'un facteur 10,7 avec un courant de 500 μ A pendant 1 h avec comme réservoir du non-tissé (Tableau 8).

En outre, la quantité de tolazoline diffusée à travers la peau pendant 1 h avec un courant continu de 500 μ A est équivalente en utilisant comme réservoir soit un hydrogel ou du non tissé (Figure 30).

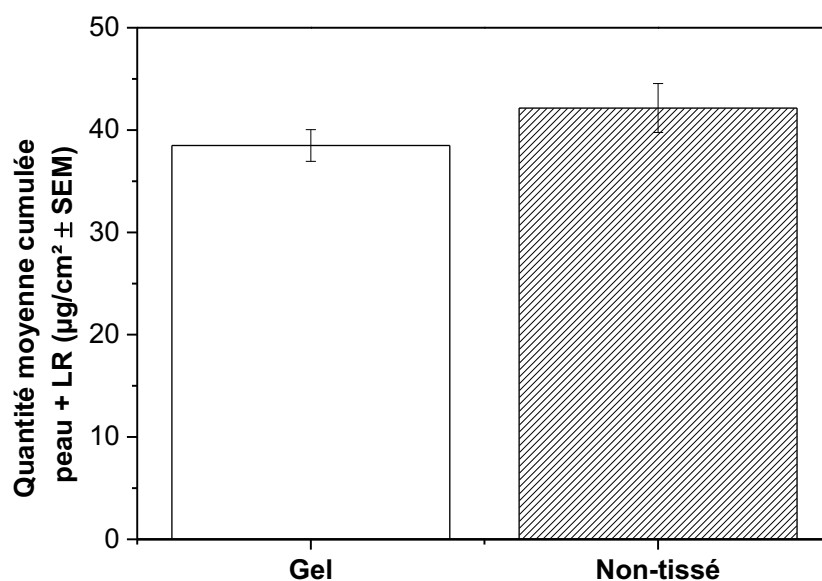


Figure 30 : Comparaison de la quantité de tolazoline pénétrée dans la peau avec comme réservoir du gel ou du non-tissé

Tableau 9

Nombre de répliques	Courant	Réservoir	Total pénétré avec courant (AD) (µg/cm²)	Ecart-type
10	500 µA continu 1 h	Hydrogel	38,49	± 1,55
2		Non-tissé	42,15	± 2,39

Nous avons constaté une acidification du pH au niveau de la cathode entraînant une dégradation de l'état de surface avec une diminution de la conductivité. La résistance mesurée après la manipulation est de 2 kΩ. En outre, cette modification de pH peut diminuer l'efficacité du transport iontophorétique. Le degré d'ionisation de la molécule est affecté par ces variations de pH [7]. En outre, lorsque le pH diminue, la concentration en ions H^+ augmente ce qui peut provoquer une réaction vasculaire à cause de l'activation des fibres C. Il faut essayer de garder le pH aussi proche que possible de 7 comme nous travaillons avec un vasodilatateur [29]. En outre, un certain déconfort et une irritation de la peau peuvent être le résultat des changements de pH [30].

Des agents tampons sont généralement ajoutés dans la formulation afin d'ajuster le pH.

Des modifications de la formule ont été, ainsi, opérées avec l'ajout de NaCl afin de pouvoir rééquilibrer le pH. Deux concentrations ont été testées : 0,9 % et 6 % associées au courant de 500 μA (167 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$) continu pendant 1 h. Une acidification est toujours observée au niveau du non tissé avec un pH d'environ 3.

Le temps de traitement est par la suite été réduit pour passer à 30 minutes avec un courant continu de 500 μA et un courant direct pulsé de 500 μA de rapport cyclique 50 % et de fréquence 500 Hz appliqué pendant 20 minutes a été testé avec une solution composée d'eau et de 2 % de tolazoline.

Nous avons opté pour une réduction de la densité de courant à 100 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ soit un courant de 300 μA . Le temps d'application de ce courant est de 20 minutes. En outre, la composition du gel a été légèrement modifiée en y ajoutant du gélifiant en l'occurrence du Makimousse 12 de Daito Kasei dont le composant principal est le sodium polyacrylate starch un polymère de synthèse. Il s'agit d'un agent de contrôle de la viscosité. 0,25 % de ce gélifiant a été adjoint à la formulation. Ainsi aucun changement de pH n'a été observé au niveau des réservoirs contenant la tolazoline.

Les résultats de cette diffusion sont présentés dans le Tableau 10 :

Tableau 10

Nombre de réplias	Courant	Total pénétré sans courant (SD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Total pénétré avec courant (AD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Rapport AD/SD
2	300 μA 20 minutes			
Moyenne		3,32	12,46	3,75
Ecart-type		$\pm 1,30$	$\pm 1,94$	

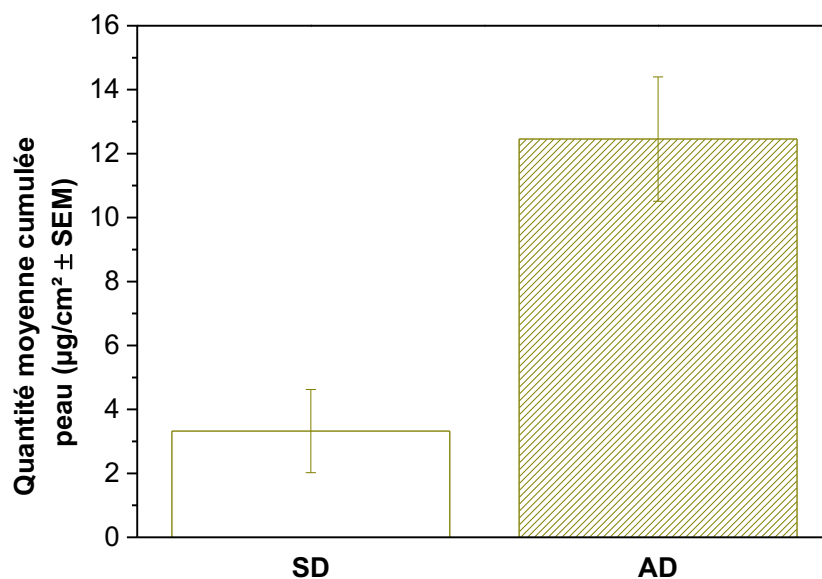


Figure 31 : Passage moyen de la molécule de tolazoline sans courant (SD) et avec courant direct (AD) continu de 300 μA avec comme réservoir le non-tissé et appliqué pendant 20 minutes

Malgré ce temps de traitement relativement court de 20 minutes et la densité de courant faible, 100 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$, une amélioration d'un facteur 3,7 est observé avec l'utilisation du dispositif. De plus, une quantité totale de tolazoline de 12,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ est diffusée à travers la peau (Figure 31). Notre détecteur UV n'est pas suffisamment sensible pour détecter la présence de cette molécule dans le liquide récepteur mimant le compartiment sanguin.

A titre exploratoire, afin d'optimiser la quantité de tolazoline diffusée sur cette période de 20 minutes, plusieurs courants directs pulsés de 750 μA (250 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$), de fréquence 500 Hz, 1000 Hz et 1500 Hz ont été testés (Figure 32).

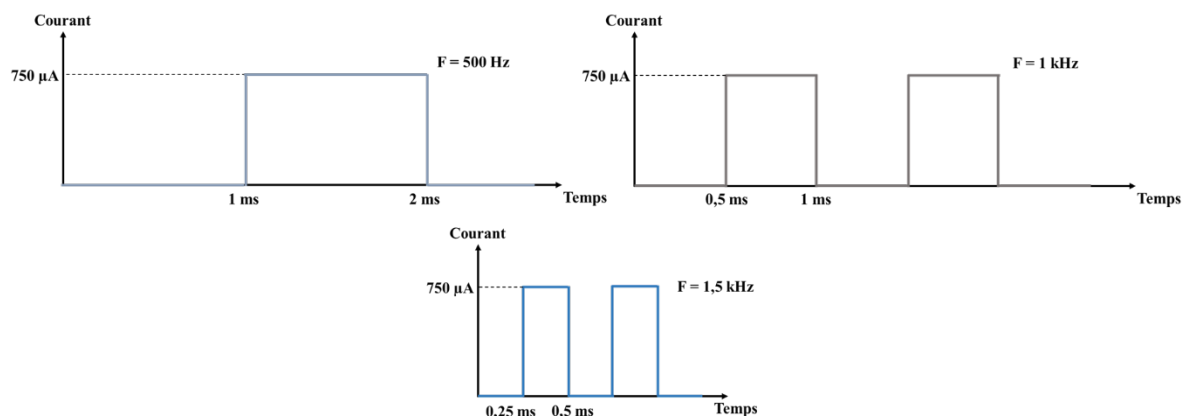


Figure 32 : Les trois courants pulsés testés pour éviter les changements de pH et optimiser la quantité de tolazoline pénétrant dans la peau

Pour les études de diffusion associées à ces trois courants pulsés, aucune cellule sans dispositif n'a été dosée. Les quantités totales diffusées avec dispositif exprimées en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ sont regroupées dans la Figure 33 :

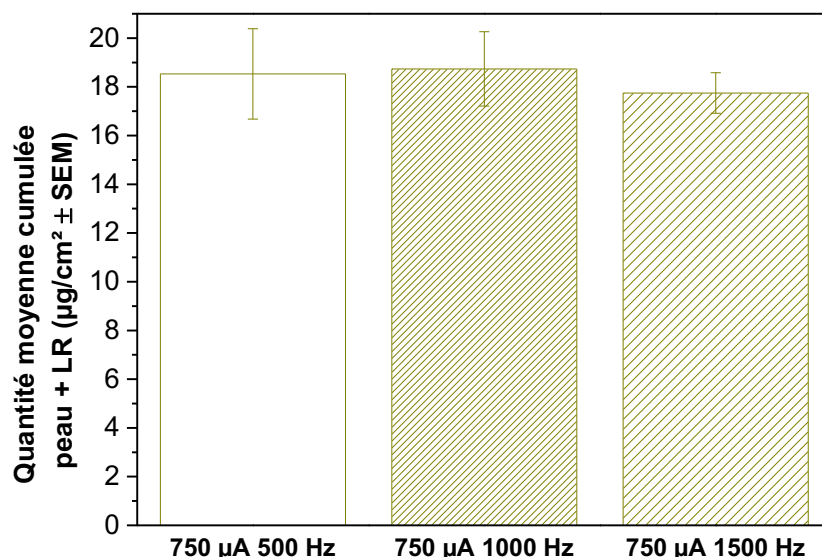


Figure 33 : Comparaison des différentes quantités totales de tolazoline diffusées dans la peau avec trois courants directs pulsés de 750 μA et de fréquence 500 Hz, 1000 Hz et 1500 Hz (rapport cyclique 50 %)

La quantité diffusée de tolazoline dans la peau et dans le liquide récepteur est équivalente pour ces trois courants pulsés. En effet, la quantité de courant totale pendant la durée de traitement de 20 minutes est de 0,45 C. Aucun changement de pH n'a été observé au niveau des non-tissés avec ces trois courants.

Le tableau ci-après récapitule les quantités totales de tolazoline diffusées :

Tableau 11

Nombre de donneurs	Courant	Total pénétré avec courant (AD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Ecart-type
2	750 μA 500 Hz	18,53	$\pm 1,86$
2	750 μA 1000 Hz	18,73	$\pm 1,53$
2	750 μA 1500 Hz	17,75	$\pm 0,83$

Nous avons résumé les différentes quantités de tolazoline qui ont pénétré dans la peau en fonction des réservoirs utilisés (hydrogel et non-tissé) ainsi que des paramètres électriques associés dans le tableau de la page suivante. Les courants pour lesquels un changement de pH a été observé sont indiqués en rouge.

Tableau 12

Réservoir	Courant	Total pénétré sans courant (SD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Ecart-type SD	Total pénétré avec courant (AD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Ecart-type AD
Gel	500 μA continu 1 h	6,38	$\pm 1,13$	38,49	$\pm 1,55$
Gel	250 μA continu 2 h	4,67	$\pm 0,64$	36,84	$\pm 1,78$
Gel	750 μA continu 0,5 h	7,64	$\pm 1,04$	31,65	$\pm 0,60$
Gel	500 μA pulsé 1 kHz 1 h	2,97	$\pm 0,70$	18,19	$\pm 1,06$
Non-tissé	500 μA continu 1 h	3,93	$\pm 1,73$	42,15	$\pm 2,39$
Non-tissé	250 μA continu 20 minutes	3,32	$\pm 1,30$	12,46	$\pm 1,94$
Non-tissé	750 μA 500 Hz 20 minutes			18,53	$\pm 1,86$
Non-tissé	750 μA 1000 Hz 20 minutes			18,73	$\pm 1,53$
Non-tissé	750 μA 1500 Hz 20 minutes			17,75	$\pm 0,83$

4. Etude préliminaire de diffusion *in vivo* du tréprostinil

Ces études *in vivo* ont été menées conjointement avec le laboratoire Hypoxie et Physiopathologies cardiovasculaires et respiratoires (HP2) de l'INSERM de Grenoble. L'équipe du Professeur Jean-Luc Cracowski a notamment travaillé sur l'administration par iontophorèse cathodique d'un analogue de la prostacycline, le treprostinil. Ils ont, notamment, utilisé cette molécule comme promoteur de cicatrisation.

Dans cette étude *in vivo*, le choix s'est donc porté sur le tréprostinil, dont le nom commercial est Remodulin[®], plutôt que la tolazoline étant donné l'expérience accumulée dans l'utilisation de cette molécule.

4.1. Le tréprostinil promoteur de cicatrisation de plaies

Le tréprostinil est un analogue de la prostacycline. Cette dernière est un membre de la famille des lipides appelée les eicosanoïdes. Ils désignent une vaste famille de dérivés d'oxydation d'acides gras polyinsaturés à 20 atomes de carbone. La prostacycline a pour principale action d'empêcher l'agrégation des plaquettes et a donc des propriétés vasodilatatrices, notamment une vasodilatation pulmonaire aigue [31].

Cette molécule est utilisée pour traiter l'hypertension artérielle pulmonaire, qui est un syndrome de dyspnée définie par une augmentation isolée de la résistance vasculaire pulmonaire conduisant à une insuffisance cardiaque droite progressive [31].

Les chercheurs du laboratoire Hypoxie et Physiopathologies cardiovasculaires et respiratoires (HP2) ont élaboré un modèle sur rat afin de pouvoir effectuer un criblage des molécules vasodilatatrices. Il a été conclu de cette étude que le tréprostinil ainsi que l'iloprost pouvaient être administrés via voie iontophorétique sur une peau saine et obtenir localement un effet vasodilatateur [32]. En outre, une étude sur des volontaires a confirmé cette observation et a permis de mettre en exergue que le tréprostinil était mieux toléré que l'iloprost. De plus, il a également été démontré que l'iontophorèse améliorait la cicatrisation sur deux modèles de sclérodémie : uPAR^{-/-} et HOCL [18]. Enfin, l'utilisation, en préclinique et clinique, de l'iontophorèse d'un analogue de la PGI₂ dans le traitement d'ulcères cutanés sclérodermiques et diabétiques a été validée [33] [34].

4.2. Matériel mise en place et méthodes utilisées

Animaux

Pour cette étude préliminaire *in vivo*, huit rats mâles Wistar âgés de huit semaines pesant entre 280 g et 290 g (Janvier Labs CERJ Le Genest Saint Isle) ont été utilisés. Les rats vivent dans des conditions contrôlées conformément à la législation Française et sont nourris avec une alimentation standard pour rats. Le protocole a été approuvé par le Comité d'éthique animale de la région Rhône-Alpes. Les rats sont gardés dans une pièce spécifique avec un cycle de sommeil et d'éveil 12 h / 12 h avec eau et nourriture à volonté. Les animaux sont rasés une demi-heure avant de réaliser l'iontophorèse [35] [36].

Approvisionnement et préparation des médicaments

Une solution commerciale de tréprostinil à 1 % (10 mg/mL) (6,4 mM ; Poids moléculaire 390,5 g.mol⁻¹ ; pKa 4,5 ; pI 1,25) est utilisée (Remodulin®, Bioprojet Pharma, Paris, France). Une dilution par 80 est réalisée en utilisant 0,9 % de NaCl afin d'obtenir une concentration de 0,125 mg/mL. Le pH a été contrôlé après dilution afin de s'assurer une compatibilité avec une iontophorèse cathodique (pH > 5,5).

Procédure expérimentale et protocoles d'iontophorèse

Les rats sont anesthésiés avec de l'isoflurane sous masque. L'induction est réalisée avec un taux de 3 % et le maintien de l'anesthésie à 1,5 %. Les rats sont placés sur pad thermique (Physitemp TCAT-2LV) pour maintenir leur température à 37 °C (Figure 34).

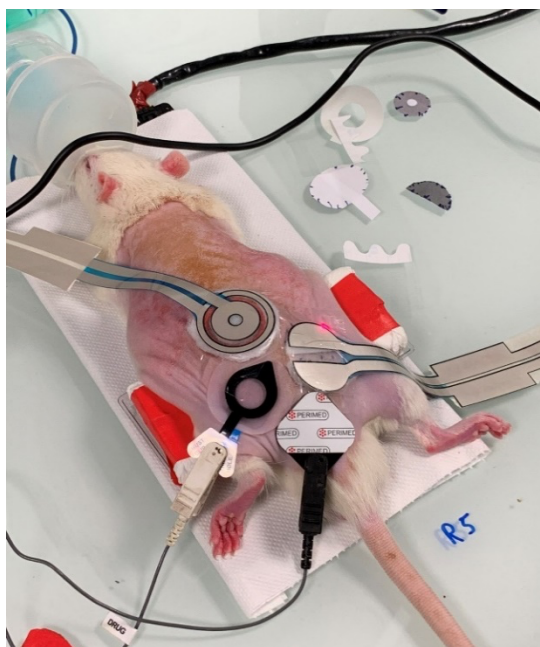


Figure 34 : Rat rasé et anesthésié sous masque positionné sur une plaque chauffante permettant de maintenir la température de l'animal à 37 °C

Mesure du flux sanguin

Le flux sanguin est mesuré par fluxmétrie laser Doppler via le PeriScan PIM 3 de Permied (Figure 35).

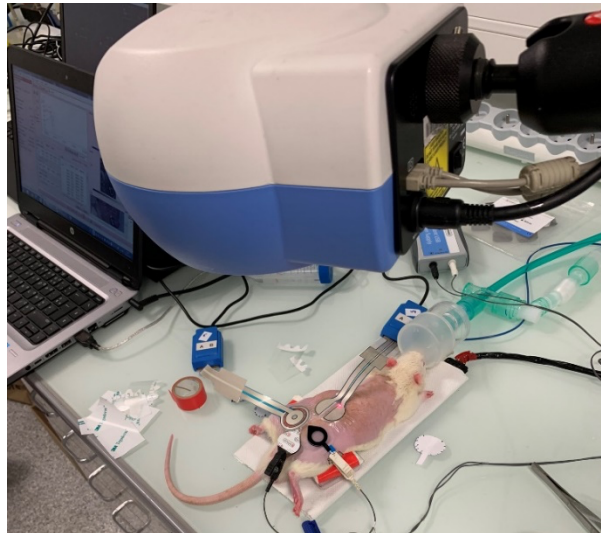


Figure 35 : PeriScan PIM3, imageur de perfusion sanguine

Le laser est positionné à 17 cm de la peau. Le pas de mesure est fixé à 2 mm avec une fréquence de scan d'un par minutes.

Pour chaque protocole, le courant iontophorétique est délivré dix minutes après l'enregistrement de la ligne de base.

Le flux sanguin est enregistré en unité arbitraire : Perfusion Units (PU) et est ensuite exprimé en pourcentage d'augmentation par rapport au niveau de la ligne de base. Il s'agit de prendre en compte des variations interindividuelles dans le flux de référence (Figure 36).

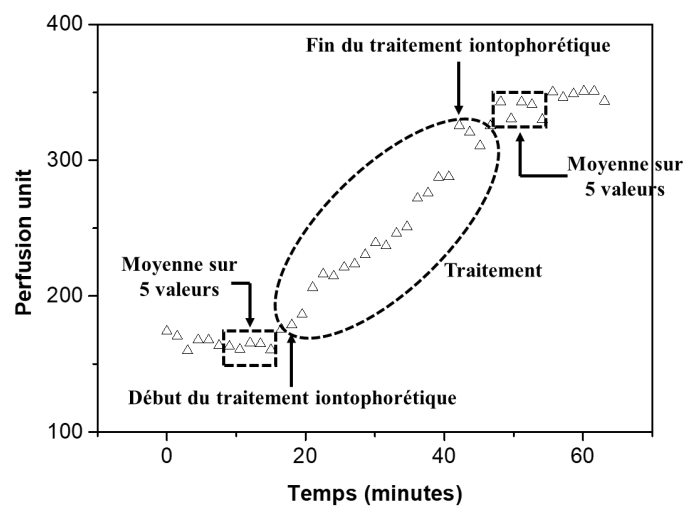


Figure 36 : Exemple de mesure du flux sanguin pendant une heure avec vingt minutes de traitement iontophorétique

Pour estimer ce pourcentage d'augmentation de la ligne de base, les deux flux sanguins de début et de fin de traitement sont calculés en faisant la moyenne de cinq mesures.

4.3. Analyse des résultats et discussion

Deux protocoles ont été menés au cours de cette étude *in vivo* préliminaire.

Comparaison des solutions iontophorétiques : Feeligreen vs Perimed®

Le premier consiste à comparer la solution de Perimed® à celle du banc de diffusion utilisé pour les manipulations *in vitro* associé à deux designs d'électrodes spécifiques.

La solution de Perimed® est composée du système de micropharmacologie Perilont de Perimed PF382b permettant de réaliser l'iontophorèse associée à l'électrode LI611 de 1,2 cm² (Figure 37). L'électrode passive est positionnée à côté de cette dernière.



Figure 37 : Système d'iontophorèse Perilont de Perimed® avec le boîtier à connecter à un ordinateur et les deux électrodes : celle qui travaille LI611 et celle qui ferme le circuit électrique PF382b

Les deux autres électrodes connectées au banc de diffusion développé par Feeligreen ont des designs spécifiques et sont imprimées par sérigraphie selon le même procédé présenté dans la sous-partie : Matériel et méthodes mises en place dans la partie *in vitro*. Ces électrodes sont présentées à la Figure 38.

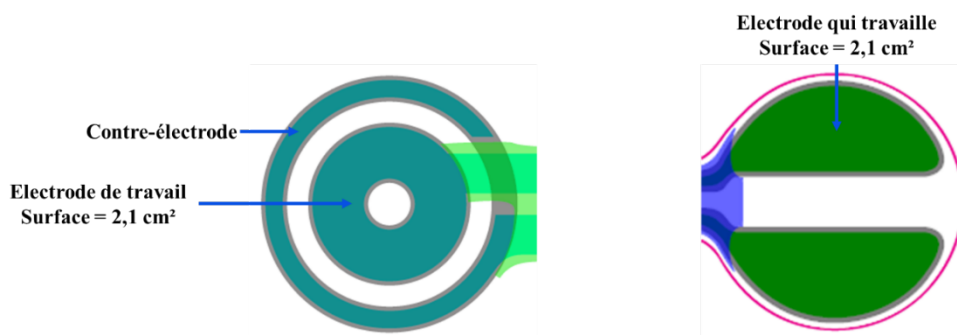


Figure 38 : Les 2 électrodes à la conception spécifique comparées à la solution de Perimed

Les électrodes de gauche et de droite de la Figure 38 seront mentionnées, dans la suite du chapitre, par électrode circulaire et parallèle.

Chacune de ces trois électrodes est positionnée aléatoirement sur le dos du rat rasé comme montré à la Figure 34.

Pour les deux électrodes de la Figure 38, le réservoir utilisé pour le tréprostinil est le non-tissé proposé par Kemex identique à celui utilisé pendant l'étude *in vitro*. Un patron spécifique à chaque design d'électrode permet une découpe à la forme des pôles.

Chacun des deux non tissés est imbibé avec un volume de 400 μL de solution de tréprostinil à 0,125 mg/mL.

Un courant continu de 100 μA et 174 μA est appliqué respectivement pour les électrodes Perimed® et pour les électrodes parallèle et circulaire pendant 20 minutes. La densité de courant est sensiblement identique pour les trois types d'électrodes, soit 83 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$.

Le flux sanguin est mesuré pendant l'application du courant iontophorétique et 20 minutes après la fin du traitement pour les électrodes de Perimed®. Pour les électrodes circulaire et parallèle, il n'est pas possible d'enregistrer le flux sanguin pendant le traitement par iontophorèse.

Les données sont exprimées en moyenne $\pm$ écart-type de la moyenne (Figure 39).

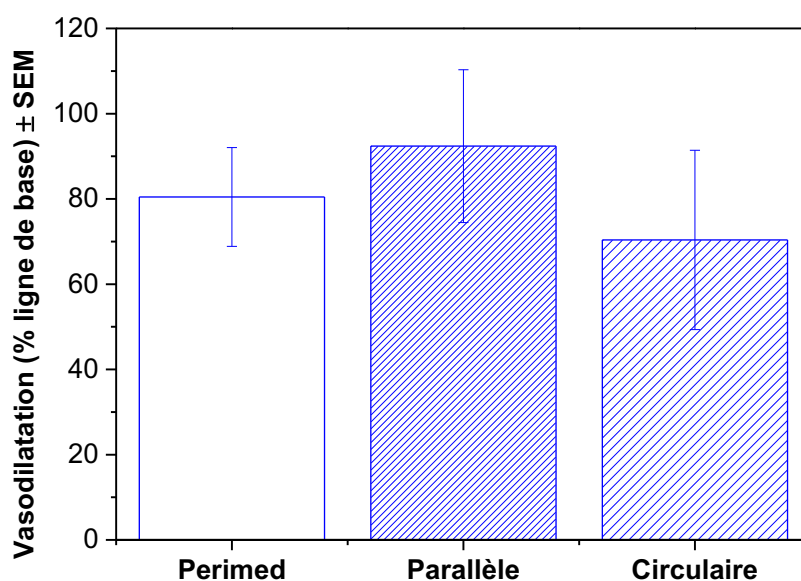


Figure 39 : Comparaison du design d'électrode

Tableau 13

Type d'électrode	% ligne de base	Ecart-type
Perimed®	80,45	± 11,58
Parallèle	92,38	± 17,93
Circulaire	70,37	± 21,03

L'électrode parallèle associée à un courant continu de 174 μ A pendant 20 minutes présente une augmentation de 92,38 % par rapport au flux sanguin initial (Tableau 13). Ce design semble être le plus efficace en terme de vasodilatation. Le choix s'est donc porté sur cette électrode pour le second protocole.

En outre, l'électrode circulaire associée au banc de diffusion Feeligreen présente, en terme de vasodilatation, une efficacité équivalente à la solution de Perimed®.

Comparaison courant continu / pulsé

Ce deuxième protocole a pour but d'évaluer l'efficacité de trois courants iontophorétiques associés à du tréprostinil et à 0,9 % de NaCl (Figure 40). Pour ce dernier, seuls trois animaux ont été testés.

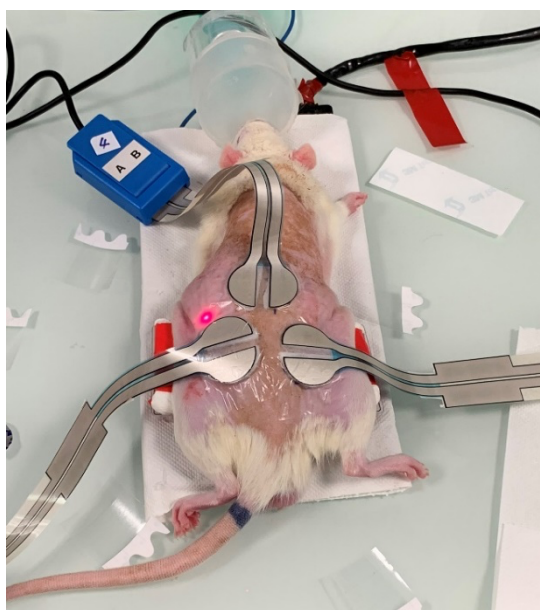


Figure 40 : Evaluation de l'effet de vasodilatation du tréprostinil associé à un courant continu et pulsé avec les électrodes parallèles

Le premier courant est celui utilisé dans le protocole précédent : un courant d'une intensité de 174 μ A appliqué pendant 20 minutes. Les deux autres courants comparés à cette référence, sont pulsés à alternance positive à une fréquence de 1 kHz avec un rapport cyclique de 50 % et 25 %. Ainsi, le premier consiste à la répétition de 1 200 000 cycles de 0,5 ms à 348 μ A (On) suivi

de 0,5 ms sans courant (Off) et le second une répétition de 1 200 000 cycles de 0,25 ms à 696 μ A (On) suivi de 0,75 ms sans courant (Off).

L'électrode utilisée est celle de design parallèle (Figure 40). Le réservoir utilisé est du non-tissé du même type que celui dans le protocole précédent.

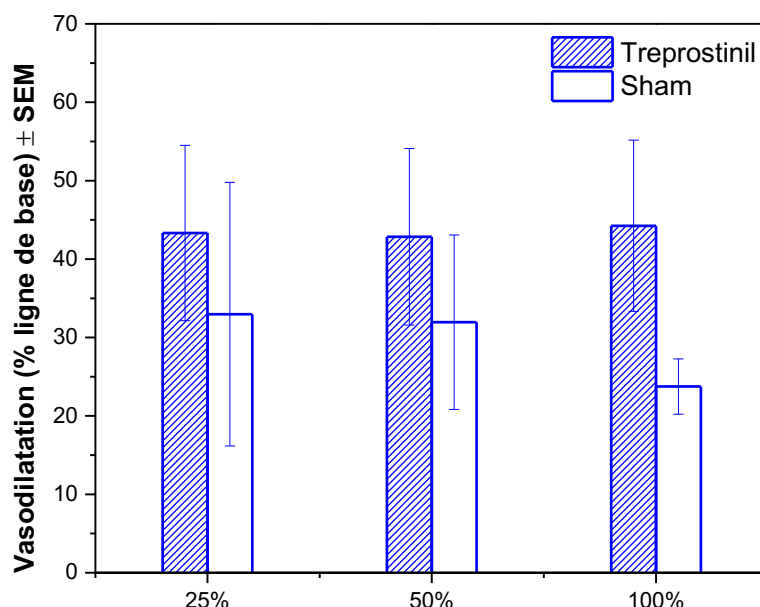


Figure 41 : Comparaison courant continu vs pulsé avec du tréprostinil et 0,9 % NaCl (Sham)

Aucun changement de pH n'a été observé au cours de ce second protocole.

Tout d'abord, l'application des trois courants de ce deuxième protocole associés à 0,9 % de NaCl provoque une légère augmentation du flux sanguin cutané, de l'ordre de 20 à 30 %, cinq minutes après l'arrêt du traitement iontophorétique (Figure 41). Cette réponse vasculaire « non spécifique » à ce courant local transcutané semblerait être provoquée par une réponse neuronale, bien que certains effets non induits par les neurones puissent également être observés [37].

Il est souvent suggéré qu'un réflexe axonal suivant l'activation de nocicepteurs est impliqué dans la vasodilatation induite par le courant lors de l'iontophorèse, soit par activation directe ou indirecte [38].

En outre, l'application locale de tréprostinil par microcourant provoque une vasodilatation plus importante que l'iontophorèse de 0,9 % NaCl pour les trois types de courant (Figure 41). On observe une augmentation de la ligne de base de 40 à 50 % contre 30 %.

Aucune différence significative en matière de vasodilatation n'a été observée entre les deux types de courant : continu et pulsé. Ceci pourrait être lié à la fréquence de 1 kHz trop importante. Plus la fréquence est élevée, plus l'impédance de charge de la surface de la peau (assimilée à un condensateur) est moins importante que celle des différentes voies de dérivation, assimilable électriquement à une résistance. Il y a, donc, proportionnellement une plus grande quantité de charge qui est transférée à la surface de la peau que celle qui la traverse. Ceci peut provoquer une dégradation du flux iontophorétique. De plus, l'impédance pour charger la surface de la peau diminue à des fréquences élevées. En effet, le temps d'accumulation des charges en surface est faible lorsqu'une impulsion est appliquée sur la peau. Outre cela, le peu de charges accumulées lors de l'impulsion est aussitôt dissipée lorsque la peau se dépolarise. Il y a donc moins de charges à la surface de la peau à haute fréquence. La force de répulsion électrostatique est plus faible favorisant le déplacement de charge à la surface de la peau plutôt qu'au travers de cette dernière. Un nombre de cycles de dépolarisation de la peau trop important dégrade le transport iontophorétique net à travers la peau [39].

Une autre piste pouvant expliquer cette différence ténue entre courant continu et pulsé (Figure 41) est la concentration en médicament dans la solution donneuse. En effet, la concentration en tréprostinil dans la solution est de 0,125 mg/mL. Or, une expérience menée par le Docteur Sylvain Kotzki a permis de démontrer que pour des concentrations en tréprostinil trop élevées, de l'ordre de 0,250 mg/mL, le courant pulsé ne permet pas d'améliorer la vasodilatation par rapport à un courant continu [40].

5. Conclusion

Au cours de ce chapitre, les premières étapes conduisant à la mise en place d'une iontophorèse thérapeutique avec tout d'abord une étude *in vitro* sur peau d'oreille de cochon excisée suivie d'une étude *in vivo* sur un modèle de rat ont été présentées.

Ce chapitre a été introduit avec une description de l'iontophorèse, méthode classique d'administration de molécules chargées à l'aide d'un microcourant de densité inférieure ou égale à 500 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$. Les différents facteurs influençant ce transport iontophorétique comme le pH de la solution, le type de courant, ou encore la densité de courant ont été décrits.

Ensuite, le cadre expérimental pour le protocole *in vitro* a été présenté. La plateforme d'expérimentation de Feeligreen s'articule autour du savoir-faire acquis au cours de différents projets avec de grands groupes. Elle est composée d'un banc de diffusion spécifique reposant sur un dispositif portable capable de réaliser l'iontophorèse associé à une cellule de Franz spécialement développée pour répondre aux exigences des protocoles *in vitro* sur peau d'oreille de cochon. La quantification de molécule diffusée au travers la peau a été réalisée grâce à la chromatographie en phase liquide avec un détecteur UV.

La molécule choisie pour cette étude *in vitro* est la tolazoline, un vasodilatateur peu coûteux et facilement accessible.

Dans un premier temps, les premières études ont consisté à comparer l'administration de la molécule formulée sous forme de gel avec et sans courant. Ces études ont montré une augmentation nette de tolazoline délivrée avec par exemple un facteur 6 pour un courant galvanique de 500 μA pendant une heure (Tableau 12). Dans un second temps, les expériences ont consisté à diminuer le temps de traitement en augmentant la densité de courant et de comparer la quantité totale délivrée avec ce dernier. On a pu observer qu'avec un courant continu de 750 μA pendant trente minutes, la quantité était sensiblement identique à celle obtenue avec un courant galvanique de 500 μA pendant deux heures.

Enfin, le réservoir du médicament a été changé pour du non-tissé avec en perspective une potentielle étude *in vivo* sur animaux. Nous avons été confrontés à des changements de pH au niveau des réservoirs. Cela peut être expliqué par l'hydrolyse de l'eau qui génère des ions OH^- et H^+ à l'électrode positive et négative respectivement.

Ce phénomène a pu être évité en utilisant un temps de traitement plus faible de 20 minutes et un courant de plus faible intensité 250 μA tout en garantissant un transport iontophorétique efficace avec un facteur d'amélioration de 3,3.

Il est clair, qu'à la suite de cette étude *in vitro*, le banc de diffusion de Feeligreen s'est montré particulièrement efficace pour réaliser l'iontophorèse.

Enfin, la dernière partie de ce chapitre présente la mise en place d'une étude préliminaire *in vivo*. Il ne s'agit en aucun cas d'une étude complète d'une part par faute de temps et d'autre part par la faible puissance statistique des protocoles. Néanmoins, cette étude nous a permis de collaborer avec l'INSERM de Grenoble et de pouvoir valider la solution technologique de Feeligreen sur sujets vivants et de pouvoir notamment observer en temps réel la vasodilatation. Fort de leur expérience sur de nombreux travaux portant notamment sur le criblage de molécules vasodilatatrices et leur administration par microcourant pour traiter entre autre la sclérodermie systémique ou plus dernièrement l'amélioration de la cicatrisation d'ulcères, le choix de la molécule étudiée s'est porté sur le tréprostinil.

Le premier protocole *in vivo* a mis en exergue une amélioration du flux sanguin avec un courant de 174 μA appliqué pendant 20 minutes. Les électrodes utilisées sont du même type que celles de l'étude *in vitro*. Le second a permis de tester différents types de courant et de montrer l'efficacité du Remodulin® en tant que vasodilatateur par rapport à une iontophorèse avec 0,9 % de NaCl. Nous n'avons pas observé de réelle différence entre les deux courants pulsés avec un rapport cycle de 25 % et 50 % et le courant continu de 174 μA . Il serait intéressant de reconduire ce deuxième protocole sur plus d'animaux afin d'infirmer ou de confirmer cette observation.

Ces deux protocoles *in vivo* sont particulièrement encourageants avec une amélioration nette de la vasodilatation dans les zones de traitement. L'étape suivante de cette étude serait de créer une escarre suivant le modèle de l'ulcère de pression évoquée au chapitre 3 et de suivre quantitativement avec des photographies et qualitativement avec des mesures de bioimpédance l'accélération de la cicatrisation de cette plaie avec cette iontophorèse thérapeutique.

Références

- [1] M. Roustit, S. Blaise et J.-L. Cracowski, «Trials and tribulations of skin iontophoresis in therapeutics,» *British Journal of Clinical Pharmacology*, vol. 77, 2013.
- [2] R. Maex, «On the Nernst–Planck equation,» *Journal of Integrative Neuroscience*, vol. 16, n° 11, pp. 73-91, 2017.
- [3] G. Imanidis et P. Luetolf, «An Extended Model Based on the Modified Nernst–Planck Equation for Describing Transdermal Iontophoresis of Weak Electrolytes,» *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 95, n° 17, pp. 1434-1447, 2006.
- [4] R. Guy, M. Delgado-Charro et Y. Kalia, «Iontophoretic transport across the skin,» *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, vol. 14, 2001.
- [5] R. Rai et C. Srinivas, «Iontophoresis in dermatology,» *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.*, vol. 71, n° 14, pp. 236-241, 2005.
- [6] R. Vanbever et V. Préat, «In vivo efficacy and safety of skin electroporation,» *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 35, n° 11, pp. 77-88, 1999.
- [7] L. Kilpatrick-Liverman, P. Kazmi, E. Wolff et T. G. Polefka, «The use of near-infrared spectroscopy in skin care applications,» *Skin Res. Technol.*, vol. 12, n° 13, pp. 162-169, 2006.
- [8] Y. N. Kalia, A. Naik, J. Garrison et R. H. Guy, «Iontophoretic Drug Delivery,» *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 56, n° 15, pp. 619-658, 2004.
- [9] M. J. Pikal, «The role of electroosmotic flow in transdermal iontophoresis,» *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 46, n° 11-3, pp. 281-305, 2001.
- [10] D. Marro, R. H. Guy et M. B. Delgado-Charro, «Characterization of the iontophoretic permselectivity properties of human and pig skin,» *Journal of Controlled Release*, vol. 70, n° 11-2, pp. 213-217, 2001.
- [11] F. F. Behar-Cohen, A. El Aouni, S. Gautier, G. David, J. Davis, P. Chapon et J. M. Parel, «Transscleral Coulomb-controlled Iontophoresis of Methylprednisolone into the Rabbit Eye: Influence of Duration of Treatment, Current Intensity and Drug Concentration on Ocular Tissue and Fluid Levels,» *Experimental Eye Research*, vol. 74, n° 11, pp. 51-59, 2002.
- [12] P. G. Green, «Iontophoretic delivery of peptide drugs,» *Journal of Controlled Release*, vol. 41, n° 11-2, pp. 33-48, 1996.

- [13] A. Djabri, R. H. Guy et M. B. Delgado-Charro, «Potential of iontophoresis as a drug delivery method for midazolam in pediatrics,» *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 128, n° 11, pp. 137-143, 2019.
- [14] A. Mościcka-Studzińska, K. Czarnecka et T. Ciach, «Electrically enhanced and controlled drug delivery through buccal mucosa,» *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, vol. 65, n° 16, pp. 767-769, 2008.
- [15] B. Mudry, R. H. Guy et M. B. Delgado-Charro, «Transport Numbers in Transdermal Iontophoresis,» *Biophysical Journal*, vol. 90, n° 18, pp. 2822-2830, 2006.
- [16] D. Marro, Y. N. Kalia, M. B. Delgado-Charro et R. H. Guy, «Contributions of Electromigration and Electroosmosis to Iontophoretic Drug Delivery,» *Pharmaceutical Research*, vol. 18, pp. 1701-1708, 2001.
- [17] P. Bakshi, D. Vora, K. Hemmady et A. K. Banga, «Iontophoretic skin delivery systems: Success and failures,» *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 586, 2020.
- [18] S. Kotzki, «L'iontophorèse thérapeutique dans la prise en charge des ulcérations cutanées de la sclérodémie systémique : screening, étude de preuve de concept sur modèles de sclérodémie murins,» Thèse, Université Grenoble Alpes, 2016.
- [19] R. S. Bloss, T. Turmen, H. E. Beardmore et J. V. Aranda, «Tolazoline therapy for persistent pulmonary hypertension after congenital diaphragmatic hernia repair,» *The Journal of Pediatrics*, vol. 97, pp. 984-988, 1980.
- [20] T.-S. Lee et X. Hou, «Dual vasoactive effects of tolazoline on rabbit pulmonary arteries,» *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, vol. 10, pp. 364-367, 1996.
- [21] C. D. Ciccone, «APPENDIX A: Drugs Administered by Iontophoresis and Phonophoresis,» chez *Pharmacology in Rehabilitation*, F. A. Davis Company, 2016.
- [22] T. J. Franz, «The Finite Dose Technique as a Valid in vitro Model for the Study of Percutaneous Absorption in Man,» *Current Problems in Dermatology*, vol. 7, pp. 58-68, 1978.
- [23] S. Zorin, F. Kuylensstierna et H. Thulin, «In Vitro Test of Nicotine's Permeability through Human Skin. Risk Evaluation and Safety Aspects,» *The Annals of Occupational Hygiene*, vol. 43, pp. 405-413, 1998.
- [24] S.-F. Ng, J. Rouse, D. Sanderson et G. Eccleston, «A Comparative Study of Transmembrane Diffusion and Permeation of Ibuprofen across Synthetic Membranes Using Franz Diffusion Cells,» *Pharmaceutics*, pp. 209-223, 2010.
- [25] I. P. Dick et R. C. Scott, «Pig Ear Skin as an In-vitro Model for Human Skin Permeability,» *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 44, 1992.

- [26] J. P. Howard, T. R. Drake et D. L. Kellogg Jr, «Effects of alternating current iontophoresis on drug delivery,» *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, vol. 76, n° 15, pp. 463-466, 1995.
- [27] Y. W. Chien, P. Lelawongs, O. Siddiqui, Y. Sun et W. M. Shi, «Facilitated transdermal delivery of therapeutic peptides and proteins by iontophoretic delivery devices,» *Journal of Controlled Release*, vol. 13, n° 12-3, pp. 263-278, 1990.
- [28] Y. W. Chien, O. Siddiqui, Y. Sun, W. M. Shi et J. C. Liu, «Transdermal Iontophoretic Delivery of Therapeutic Peptides/Proteins I: Insulin,» *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 507, n° 11, 1987.
- [29] E. Vranić, «Iontophoresis: fundamentals, developments and application,» *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, vol. 3, 2003.
- [30] J. E. Sanderson, S. De Riel et R. Dixon, «Iontophoretic delivery of nonpeptide drugs: Formulation optimization for maximum skin permeability,» *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 78, 1989.
- [31] N. Skoro-Sajer, I. Lang et R. Naeije, «Treprostinil for pulmonary hypertension,» *Vascular Health and Risk Management*, vol. 4, 2008.
- [32] S. Blaise, «Développement de la iontophorèse comme axe thérapeutique des atteintes microcirculatoires dans la sclérodémie systémique,» Thèse, Université de Grenoble, 2011.
- [33] Y. Savina, «Iontophorèse d'un analogue de la prostacycline pour améliorer la cicatrisation des ulcères liés à une dysfonction microvasculaire cutanée,» Thèse, Université Grenoble Alpes, 2019.
- [34] A. Guigui, R. Mazet, S. Blaise, C. Cracowski, M. Beau Guillaumot, S. Kotzki, M. Roustit et J.-L. Cracowski, «Treprostinil iontophoresis in systemic sclerosis-related digital skin ulcers: A single ascending dose safety study,» *Archives of Cardiovascular Diseases Supplements*, 2020.
- [35] M. Roustit, S. Blaise, C. Arnaud, M. Hellmann, C. Millet, D. Godin-Ribuot, B. Dufournet, J. Boutonnat, C. Ribuo et J.-L. Cracowski, «Iontophoresis of Endothelin Receptor Antagonists in Rats and Men,» *Plos One*, 2012.
- [36] S. Blaise, M. Roustit, C. Millet, C. Ribuo, J. Boutonnat et J.-L. Cracowski, «Cathodal iontophoresis of treprostinil and iloprost induces a sustained increase in cutaneous flux in rats,» *British Journal of Pharmacology*, vol. 162, 2011.
- [37] S. Durand, B. Fromy, P. Bouyé, J. Saumet et P. Abraham, «Current-Induced Vasodilation during WaterIontophoresis (5 min, 0.10 mA) Is Delayed fromCurrent Onset and Involves Aspirin Sensitive Mechanisms,» *Journal of Vascular Research*, vol. 39, p. 59–71, 2002.

- [38] M. N. Berliner, «Skin Microcirculation during Tapwater Iontophoresis in Humans: Cathode Stimulates More Than Anode,» *Microvascular Research*, vol. 54, pp. 74-80, 1997.
- [39] T. Bagniefski et R. R. Burnette, «A comparison of pulsed and continuous current iontophoresis,» *Journal of Controlled Release*, pp. 113-122, 1990.
- [40] S. Kotzki, M. Roustit, C. Arnaud, D. Godin-Ribuot et J.-L. Cracowski, «Effect of continuous vs pulsed iontophoresis of treprostinil on skin blood flow,» *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 72, pp. 21-26, 2015.

CONCLUSION GENERALE

Les plaies chroniques constituent ce que l'on pourrait appeler une « épidémie silencieuse » menaçant la santé publique ainsi que l'économie. Le traitement des plaies chroniques est extrêmement coûteux. Rien qu'aux États-Unis, un montant d'environ 30 milliards de dollars est dépensé pour le traitement des plaies chroniques. La prévention de ce type de plaies repose principalement sur une vigilance accrue et un travail acharné de la part des soins infirmiers.

Ce travail de thèse s'est articulé autour d'un sujet particulièrement ambitieux faisant converger des disciplines aussi variées que la microélectronique et la biologie. Celui-ci a ainsi été organisé autour de deux axes principaux dont le cadre est la lésion de pression. Le premier des axes développe la prévention afin d'éviter que l'escarre ne se déclare par mesure du temps d'exposition à la pression et avertissement par un signal sonore du personnel hospitalier. Le second quant à lui se concentre sur la détection de ce type de plaie ainsi que sur leur traitement avec la mise au point d'un patch transdermique.

Le premier objectif du travail de thèse a été de développer un dispositif complet visant à détecter les zones qui ont été exposées à une pression sur une durée relativement importante pouvant conduire à une perte de vascularisation dans ces zones d'appui. Cela peut engendrer l'apparition de lésions de pression. Il s'agissait donc de développer une matrice de capteurs sensibles à la pression flexible, conformable associée à une électronique spécifique et une interface graphique pour faciliter la visualisation des différentes pressions sur l'ensemble de la surface. Le choix s'est porté sur la technologie piezorésistive, c'est-à-dire une variation de résistance lorsqu'une contrainte mécanique est appliquée.

La première étape du développement de cette matrice a été de développer un capteur unitaire et d'en optimiser la réponse électrique. Ce capteur devait être relativement simple à fabriquer et peu coûteux. Il est constitué de trois éléments : des électrodes interdigitées, une entretoise et une membrane piezorésistive. Le dépôt d'encre métallique composée de particules d'Ag/AgCl sur un substrat plastique en polytéréphtalate d'éthylène (PET) ainsi que celui du matériau piezorésistif ont été réalisés par sérigraphie. Le matériau piezorésistif est obtenu par mélange de deux encres 7002 et 7004HR d'Henkel. Le ratio utilisé est de 60 % d'encre 7004HR pour 40 % d'encre 7002. L'entretoise est découpée mécaniquement à la forme souhaitée puis les trois éléments sont alignés puis laminés manuellement afin de former une membrane piezorésistive. Le capteur retenu possède une surface active de 3 cm², 19 électrodes interdigitées d'une largeur de 500 µm et espacées de 500 µm. Une plateforme de caractérisation a été développée en interne. Elle est constituée d'un banc de caractérisation mécanique avec un dynamomètre, une carte électronique avec un amplificateur non inverseur et d'une interface graphique. Le capteur

de pression présente une sensibilité de $0,028 \text{ kPa}^{-1}$ pour une pression comprise entre 0 et 35 kPa.

Le polymère composite chargée présente une hystérésis de l'ordre de 10 % et présente une légère dérive de 4 % pendant les tests de cyclage mécanique.

Un premier prototype de dispositif de matrice de capteurs sensibles à la pression a été développé. Cette matrice est peu coûteuse, flexible et conformable. Elle est constituée de 32 pixels répartis sur 4 lignes et 8 colonnes. Ils sont séparés les uns des autres d'une distance de 2 cm. Cet ensemble de capteurs couvre une surface de 561 cm^2 ($33 \text{ cm} \times 17 \text{ cm}$). L'électronique associée à cette matrice doit être capable de lire la variation de chaque capteur sans interférence. Pour cela, le choix s'est porté sur une variante de la méthode dite de mise à la masse des éléments parasites. L'idée est de faire en sorte que la différence de potentiel aux bornes de ces derniers soit nulle. Une interface graphique développée en Wlangage se charge d'afficher en temps réel les données de pression de chaque capteur de la matrice. Un dégradé de couleurs est appliqué pour distinguer les différents seuils de pression. Afin d'obtenir une valeur précise de la pression, chaque élément sensitif de la matrice a été calibré en adaptant quadratiquement la pression en fonction de la tension de sortie du montage non-inverseur. Chacune des équations est ensuite intégrée au code embarqué. Tout ce travail constitue une première brique indispensable à la mise en place d'une version plus sophistiquée qui pourrait être capable de stocker et d'analyser les données avec un système de neurones embarqué entraîné au préalable à la reconnaissance d'exposition à la pression conduisant à des lésions de pression.

Malgré les efforts consentis au développement d'une solution tout en un pour la prévention, il s'avère pertinent de s'intéresser en parallèle à la détection de l'escarre le plus rapidement et efficacement tout en gardant à l'esprit la promotion de la cicatrisation de ce type de plaie. Plus elle est soignée rapidement et efficacement moins le risque pour le patient est grand de développer des complications qui pourraient s'avérer fatales. En outre, ce type de plaie est particulièrement difficile à prédire à cause notamment de l'énorme variation pour chaque patient de la combinaison de la pression, du temps et des cycles d'ischémie reperfusion aboutissant à la survenue de l'escarre. Des dommages peuvent survenir à la suite d'une ischémie en moins de 2 h, et les premiers stades comme nous l'avons évoqué au Chapitre 1 peuvent être particulièrement difficiles à détecter à l'œil nu. D'un point de vue électrique, la cellule peut être représentée en son centre (cytoplasme / milieu intracellulaire) par un milieu conducteur riche en ions baignant dans un milieu lui aussi riche en ions et conducteur, le fluide extracellulaire. La membrane de la cellule, quant à elle, peut être considérée comme une barrière au courant et est donc modélisée par un condensateur. Les milieux riches en ions sont modélisés par des résistances. En outre, l'impédance qui est une grandeur physique complexe, combine dans son expression les termes de perte, la résistance, et ceux de stockage d'énergie, la capacité et l'inductance. Des perturbations des différentes structures biologiques se répercutent, alors, dans le spectre d'impédance des tissus. Une force compressive appliquée sur des tissus peut engendrer des lésions cellulaires et provoquer la rupture des membranes entourant les cellules. Le liquide intracellulaire se libère alors. Ces dommages cellulaires présenteront une conductivité électrique plus élevée à travers la membrane et une capacité moindre à stocker l'énergie : la cellule se comporte moins comme un condensateur et plus comme une résistance.

L'impédance du tissu de la lésion de pression devrait donc diminuer car le courant électrique aurait en théorie moins de restrictions d'un point de vue chemin autour des membranes cellulaires à travers le fluide extracellulaire en excès. Quant à la phase, cette dernière devrait augmenter pour tendre vers 0 en raison de la plus grande contribution du fluide extracellulaire en excès concomitant à celle de la capacité de la membrane de la cellule plus faible. La spectroscopie présente aussi l'avantage d'être non invasive.

Une étude *in vitro* a été menée sur peau d'oreille de cochon excisée. Une force en compression de 71 kPa a été appliquée sur cette dernière avec un actionneur de forme circulaire d'une surface de 352 mm² pendant 60 minutes. La mesure d'impédance a été réalisée à l'aide d'un impédancemètre, le Solartron SI1260, connecté à un ordinateur. Une paire d'électrodes flexibles sur laquelle est déposée un gel conducteur afin de diminuer la résistance de contact a été employée. Une diminution dans le spectre d'impédance a été observée sur les tissus endommagés comparés à ceux sains. De plus, comme attendu, la phase de l'impédance augmente. Ceci tendrait à montrer une perte d'intégrité de la membrane cellulaire ; les tissus sont moins capacitifs et plus conducteurs.

Une collaboration avec le laboratoire HP2 de l'INSERM de Grenoble a permis de mettre en place une étude *in vivo* sur 6 souris de type db/db hyperglycémiques et 6 souris saines. Le modèle de l'ulcère de pression repose sur trois cycles d'ischémie/reperfusion. Les animaux ont été, au préalable, rasés et dépilés. L'ischémie est réalisée avec deux aimants d'un diamètre de 10 mm. La peau de l'animal est pincée entre ces derniers pendant deux heures puis la pression est relâchée pendant 15 minutes. Ce cycle d'ischémie/reperfusion est répété à trois reprises. Deux escarres sont ainsi obtenues par souris. Les tissus ont été caractérisés au préalable pour servir de référence. Une mesure d'impédance est ensuite effectuée chaque jour sur chaque lésion de pression. Pour les deux types de souris, la magnitude de l'impédance chute le jour suivant l'induction de l'escarre. La phase quant à elle augmente et tend vers 0. La tendance observée lors de la manipulation *in vitro* est confirmée. Ainsi, la spectroscopie d'impédance est une technique relativement simple à mettre en place, robuste et fiable de détection de lésions tissulaires engendrées par une exposition à une force de compression. En outre, cette même tendance a été observée tout de suite après l'induction de l'escarre, une heure et trois heures après sur les souris diabétiques. Cette observation suggère une détection précoce de l'ulcère de pression avant même l'apparition de la plaie. Cette conclusion fait écho aux travaux de recherche d'autres équipes sur la spectroscopie d'impédance. Swisher *et al.* ont démontré, par exemple, sur des rats, que les différences de bioimpédance augmentaient progressivement les jours suivants l'induction de l'ulcère de pression et qu'une fréquence de 15 kHz permettait une surveillance optimale. En outre, d'autres recherches ont mis en évidence le fait que le module de l'impédance diminuait et la phase associée augmentait (devenant moins négative) lorsque les tissus sont endommagés et présentent une inflammation.

Cette étude *in vivo* nous a permis d'évaluer la faisabilité d'une méthode basée sur la mesure de bioimpédance en tant que mesure objective afin de suivre le processus de cicatrisation des lésions de pression. La stratégie se base sur une caractérisation électrique journalière de chaque plaie. Sur souris hyperglycémiques, nous avons observé une diminution du module et une augmentation de la phase (devenant moins négative) de l'impédance le jour suivant l'induction des lésions de pression. Le module a, ensuite, progressivement augmenté pour tendre vers sa

valeur initiale tout comme la phase de l'impédance. Afin d'approfondir cette recherche de corrélation entre état de cicatrisation de l'escarre et caractérisation électrique des tissus concernés, une méthode d'extraction des paramètres du modèle Cole-Cole en formulation RC, modèle empirique ayant pour but de décrire l'impédance des tissus a été mise en place. Quatre paramètres ont été déterminés : la résistance basse fréquence R_0 , la résistance haute fréquence R_∞ , l'élément à phase constante C et un paramètre adimensionnel α . La cicatrisation de plaie est caractérisée par trois phases : l'inflammation, la prolifération et le remodelage. Lors de la phase inflammatoire, nous avons constaté, sur trois souris diabétiques, une chute du paramètre R_0 au cours des 4 jours suivants l'induction de l'ulcère. Ce paramètre correspondant aux fréquences faibles reflète principalement l'état de la couche cornée et traduit une dégradation tissulaire provoquant une apoptose des cellules. Les tissus de la plaie deviennent plus conducteurs en surface. En outre, le paramètre R_∞ lié aux hautes fréquences et donc aux couches plus profondes de la plaie. Là aussi, une chute de ce paramètre a été observée les trois jours suivants l'induction de l'ulcère de pression. Cela indiquerait des lésions profondes lors de l'application des contraintes mécaniques sur la peau. Lors de la phase de prolifération, ces deux paramètres augmentent et se stabilisent autour du huitième jour. Le paramètre R_∞ se stabilise autour de la valeur de référence des tissus sains. Cela pourrait indiquer une cicatrisation des couches les plus profondes. Le paramètre R_0 dépasse, au treizième jour, la valeur initiale des tissus sains. Ceci pourrait être dû à la cicatrisation : la structure, l'épaisseur, et la teneur en humidité du tissu cicatriciel nouvellement formé. Enfin, le paramètre α , qui traduit la cohésion cellulaire, augmente également et tend vers 1.

La bioimpédance est, donc, une technique prometteuse à la fois pour la détection de plaies ischémiques avant que l'inflammation ne soit observable à l'œil nu, pour l'évaluation objective et quantitative de l'escarre ainsi que pour le suivi de l'état de cicatrisation.

Une fois la plaie détectée, il s'agit de la traiter et de suivre l'évolution de sa cicatrisation par spectroscopie d'impédance.

L'impédance relativement faible des plaies est un argument en faveur de l'utilisation de l'iontophorèse comme technique d'administration de médicaments. En outre, le choix s'est porté, dans un premier temps, sur un vasodilatateur bon marché, la tolazoline. En effet, pour nous, favoriser la cicatrisation par l'augmentation du flux sanguin localement nous semblait être une réponse adaptée. Afin, tout d'abord, d'évaluer l'efficacité du transport iontophorétique sur la tolazoline, une étude *in vitro* a été mise en place sur peau d'oreille de cochon excisée montée sur cellule de Franz. Les dosages ont été réalisés par HPLC UV. Plusieurs types de courant ont été testés sur différents temps. Le but est d'avoir la quantité la plus grande diffusée au sein de la peau. Des électrodes souples en Ag/AgCl couvertes de carbone ont été utilisées. La couche de carbone permet de protéger cette couche contre les agressions chimiques notamment. Ces électrodes sont connectées à un banc de diffusion constitués de 6 dispositifs iontophorétiques portables pilotable via un ordinateur. Nous avons pu observer une amélioration du passage transdermique. Par exemple, en trente minutes avec un courant continu de 750 μA appliqué, le passage transdermique est amélioré d'un facteur 4 par rapport à une référence sans courant. Le réservoir utilisé avec ce courant est un gel. En outre, pour des raisons pratiques notamment pour éviter un étalement potentiel du gel lors de l'application d'une contrainte mécanique, nous avons décidé par la suite de changer de réservoir et d'essayer le non-tissé. En outre, ce type de réservoir, dans l'optique d'une étude *in vivo*, pouvait s'avérer plus pratique. Avec un courant continu de 500 μA appliqué pendant une heure, le passage

transdermique a été amélioré d'un facteur 10. Cependant, nous avons constaté une acidification des pôles des électrodes pouvant provoquer des brûlures chez le patient. Nous avons décidé de diminuer le courant ainsi que son temps d'application : 250 μA pendant 20 minutes. Le transport iontophorétique est, évidemment moindre, avec un rapport de 3,7 et une quantité totale pénétrée dans la peau de 12,46 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Afin d'augmenter cette quantité tout en conservant un temps de traitement de 20 minutes, un courant pulsé direct d'une intensité de 750 μA et d'une fréquence de 1 kHz a permis de délivrer une quantité de 18,73 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dans la peau. Aucun changement de pH n'a été observé avec ces deux derniers courants.

Cette étude *in vitro* a servi de preuve de concept en démontrant l'efficacité des microcourants à améliorer le passage transdermique du vasodilatateur. Cependant, il n'est pas possible de quantifier une réponse vasculaire sur une peau excisée. En marge des manipulations *in vivo* menées sur la caractérisation électrique de tissus, une étude a été mise en place mais portant cette fois-ci sur le tréprostinil, un analogue de la prostacycline en collaboration avec le laboratoire HP2 de l'INSERM de Grenoble. En effet, ils ont obtenu d'excellents résultats avec cette molécule après criblage d'autres molécules vasodilatrices notamment en terme de tolérance et de possibilité d'être diffusée par voie iontophorétique. De plus, l'iontophorèse d'un analogue de la PGI_2 a montré de bons résultats en matière de cicatrisation d'ulcères cutanés sclérodermiques au cours d'études précliniques et cliniques. Une étude sur huit rats mâles Wistar a été menée. Dans un premier temps, nous avons voulu comparer l'efficacité de notre solution : banc électronique associée à des électrodes flexibles et la plateforme d'iontophorèse de Perimed®. Deux conceptions d'électrode différentes ont été testées : l'une de forme circulaire, l'autre de forme parallèle avec un courant continu de 174 μA appliquée pendant 20 minutes. La vasodilatation a été mesurée par laser Doppler et est exprimée en pourcentage de ligne de base. L'électrode parallèle s'est avérée la plus efficace avec une augmentation du flux sanguin de l'ordre de 90 %. Ainsi, l'iontophorèse associée à un vasodilatateur a permis d'augmenter le flux sanguin localement. La plateforme développée par Feeligreen associant une carte électronique à des électrodes flexibles peut donc s'intégrer dans un patch à visée thérapeutique couplé à une mesure de bioimpédance.

Annexe A

La Figure 1 présente l'architecture de l'électronique embarquée utilisée pour réaliser les caractérisations des capteurs flexibles sensibles à la pression.

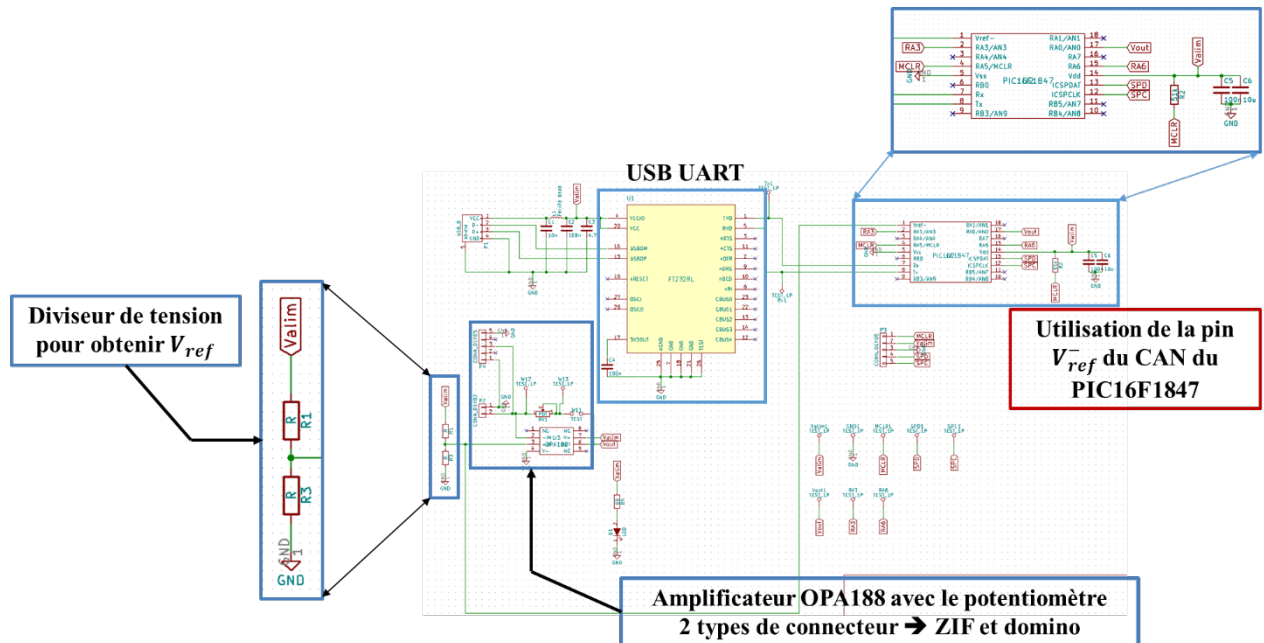


Figure 1 : Electronique utilisée pour la caractérisation des capteurs de pression

Elle s'articule autour du microcontrôleur 8 bits PIC16F1847, d'un amplificateur opérationnel OPA188 montée en non-inverseur. Le gain peut être modifié à l'aide d'un potentiomètre.

La Figure 2 décrit l'architecture électronique de la carte permettant de scanner l'ensemble des 32 capteurs, en temps réel, de la matrice et d'envoyer toutes ces données à l'ordinateur. Ce dernier se charge de les afficher sur une interface graphique dédiée.

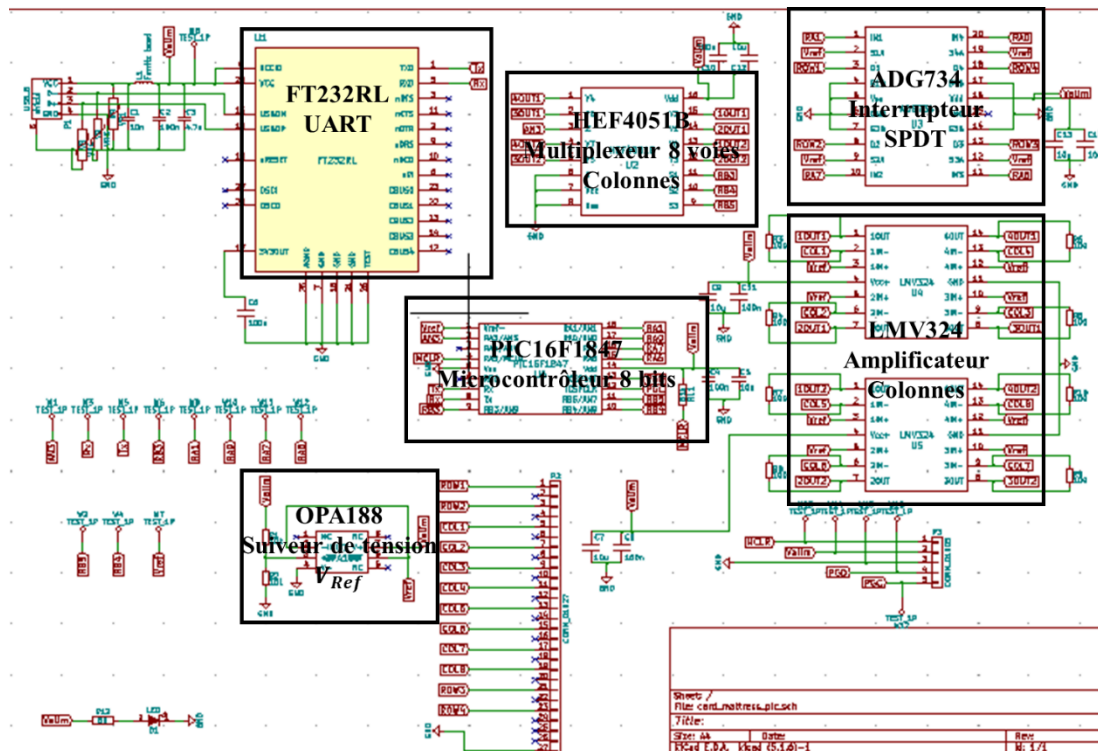


Figure 2 : Electronique embarquée permettant de scanner l'ensemble des capteurs de la matrice et d'envoyer toutes ces données à l'ordinateur de contrôle

Le microcontrôleur est le PIC16F1847 8 bits. Ce dernier contrôle le multiplexeur 8 voies HEF4051B associées aux colonnes de la matrice et l'interrupteur SPDT ADG734 dont le rôle est de changer le potentiel des lignes de V_{Ref} à la masse. L'amplificateur opérationnel 4 voies LMV324 est en charge de mesurer les variations de résistance de chaque capteur de pression et d'éviter les courants fantômes pouvant perturber la mesure.

La trame de communication UART entre le PIC et le PC de contrôle est composée du caractère 'O', du numéro de la ligne 'i', des bits de poids fort 'MSB', des bits de poids faible 'LSB', du numéro de la colonne 'j', du caractère 'K', et d'un compteur (Figure 3 Zoom).

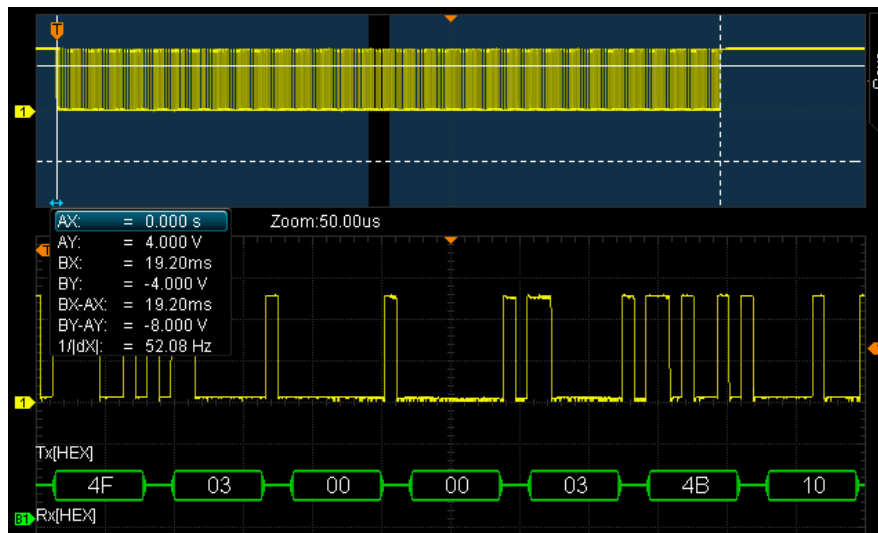


Figure 3 : Signal mesuré sur la broche Tx du microcontrôleur en haut. En bas, zoom sur la trame de 7 caractères associée à chaque capteur

Pour le protocole RS232, le baud a été fixé à 115200. Ainsi la trame étant constituée de 10 bits, chaque mot prend $8,68 \times 10^{-5}$ secondes. Une trame est composée de 7 mots, ainsi pour 32 capteurs, la trame complète est constituée de 224 mots. Ainsi, le temps total pour scanner l'ensemble de la matrice de 32 capteurs est de 19,4 ms.

Annexe B

Concevoir une source de courant contrôlée en tension capable d'injecter ce courant sur une large gamme de fréquences peut se montrer particulièrement ardue. En effet, la présence de capacités parasites à la masse dégrade la précision du courant injecté. D'autres facteurs limitants peuvent venir aussi entraver la réalisation de ce type de source de courant comme l'impédance intrinsèque des électrodes. Le but d'un système de spectroscopie d'impédance est de mesurer, entre les électrodes, l'impédance du tissu et de pouvoir récupérer les données pour pouvoir les interpréter ensuite : suivi de cicatrisation de plaies, par exemple. En pratique, l'impédance mesurée est une combinaison de l'impédance des électrodes, de l'interface tissu/électrodes et du système de mesure.

En outre, il s'avère particulièrement complexe de concevoir une source de courant contrôlée en tension dont l'impédance de sortie est supérieure au mégohm à des fréquences de l'ordre du mégahertz [1]. Il s'agit de la caractéristique clé des sources de courant.

De nombreuses topologies de source de courant contrôlée en tension ont été implémentées et étudiées : des amplificateurs à transconductance flottants [2], des convoyeurs de courant [3], des sources de courant basées sur la topologie de Howland [4], des convertisseurs d'impédance négatifs.

Les miroirs de courant ont été utilisés dans la conception de convertisseurs tension-courant afin de permettre la copie du courant d'alimentation des amplificateurs opérationnels en un courant de sortie bipolaire [5]. Ces miroirs de courant peuvent aussi servir à détecter les courants d'alimentation d'amplificateur opérationnel pour éviter l'utilisation de rétroaction positive [6]. Il est possible d'obtenir une impédance de sortie relativement élevée avec ce type de source de courant. Cependant, le miroir de courant peut provoquer une dégradation de la réponse fréquentielle de la source de courant et une distorsion du courant injecté dans la charge. Dans la littérature, l'utilisation du circuit intégré AD844, un amplificateur opérationnel monolithique à haute vitesse, associé à un feedback DC permet d'éviter les problèmes cités précédemment [7].

Les sources de courant de type Howland utilisent un amplificateur opérationnel avec contre-réaction positive et négative.

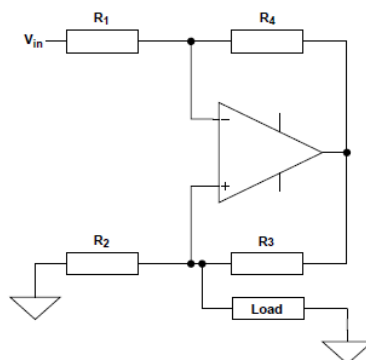


Figure 4 : Source de courant Howland

La *Figure 4* montre une source de courant typique de type Howland. Si les quatre résistances sont choisies telles que $\frac{R_3}{R_2} = \frac{R_4}{R_1}$ alors il peut être démontré que $I_{load} = -\frac{V_{in}}{R_2}$. Cela peut sembler particulièrement efficace. Cependant, il y a un hic. En effet, le ratio des résistances doit correspondre exactement. Malgré tout, sa performance est limitée par le taux de réjection du mode commun (CMRR : *Common Mode Rejection Ratio*) de l'amplificateur opérationnel. Pour des courants de sortie importants, les résistances doivent être petites, et ceci est particulièrement complexes à respecter. De plus, à hautes fréquences, l'impédance de sortie peut chuter d'une valeur désirée quasiment infinie à une très petite de quelques centaines d'ohms (impédance de sortie en boucle ouverte de l'amplificateur opérationnel). Ces inconvénients limitent l'utilisation de ce circuit particulièrement astucieux.

Plusieurs améliorations peuvent être apportées à cette source de courant. Un second amplificateur opérationnel en mode suiveur (CI_2) peut être ajouté comme montré dans la configuration de la figure suivante (*Figure 5*) :

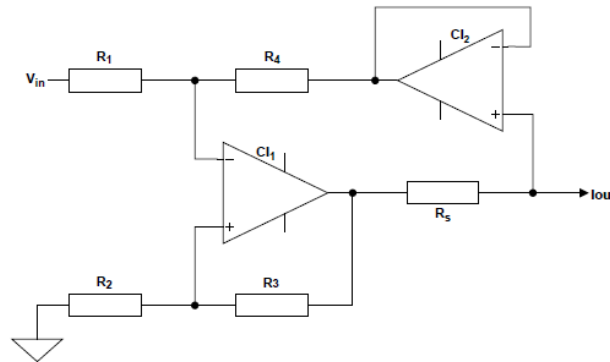


Figure 5 : Bipolarité source de courant

La topologie de la *Figure 5* est meilleure que celle présentée précédemment car le courant de sortie I_{out} est fourni par la résistance de détection R_s dont la valeur peut être choisie indépendamment du réseau de résistances adaptées (R_1 , R_2 , R_3 , et R_4). Le circuit intégré 1 peut être considéré comme un amplificateur opérationnel différentiel dont les connexions de détection et de référence échantillonnent les chutes au travers de la résistance R_s (i.e. le courant). Ce dernier est tamponné par le suiveur CI_2 . Aucune erreur de courant n'est ainsi introduite. En considérant que $\frac{R_3}{R_2} = \frac{R_4}{R_1}$, le courant de sortie s'exprime alors par $I_{out} = \frac{R_4}{R_1 R_s} V_{in}$ [8].

Dans la littérature, une autre piste a été envisagée afin d'améliorer la source de courant de type Howland [9]. Elle est présentée à la *Figure 6*.

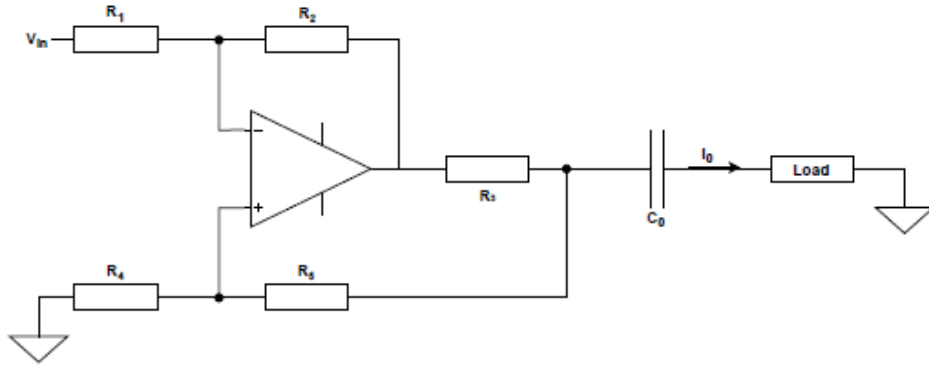


Figure 6 : Source de courant Howland améliorée. La quantité I_0 est le courant de sortie. Le condensateur C_0 sert à bloquer les composantes continues.

Sur la Figure 6, la tension appliquée à l'entrée non-inverseuse est une fraction de la tension aux bornes de la résistance de charge à cause du diviseur de tension. Cette fraction agissant comme une tension de mode commun est ainsi plus faible. La tension aux bornes de la charge peut être augmentée.

Le courant de sortie I_0 parcourant la charge R_L est donnée par :

$$I_0 = \frac{R_4 R_2 - R_1 (R_3 + R_5)}{R_1 R_3 (R_4 + R_5)} V_L - \frac{R_2}{R_1 R_3} V_{in} \quad (\text{A B.1})$$

Dans la relation précédente, l'amplificateur opérationnel est supposé parfait. Ainsi, l'impédance de sortie de cet amplificateur est égale à 0 tandis que son impédance d'entrée ainsi que le gain en boucle ouverte sont infinis. Par définition, le courant de sortie I_0 doit être indépendant de la tension de charge V_L . Pour cela, la résistance R_4 doit être égale à la somme $(R_3 + R_5)$ et la résistance R_1 doit correspondre à la résistance R_2 . En théorie, lorsque les conditions précédentes sont remplies, le courant de sortie I_0 sera déterminé par la résistance R_3 . L'impédance de sortie sera, donc, infinie.

En pratique, maintenir cette impédance élevée sur une large gamme de fréquence est complexe. Le circuit peut osciller surtout pour des fréquences supérieures au mégahertz. Plusieurs approches topologiques basées sur la source de courant de type Howland ont été développées afin de contourner cette problématique [10].

Des systèmes multi fréquentiels engendrent de nombreux problèmes. En effet, il faut pouvoir, non seulement, maintenir la stabilité de la source de courant au travers une boucle de contre-réaction mais aussi pouvoir maintenir une impédance de sortie élevée. Plusieurs solutions ont été proposées par les concepteurs en intégrant notamment comme buffer un suiveur de tension dans la contre-réaction positive de la source de courant Howland [3].

Les sources de courant n'ont, en pratique, ni un courant de sortie constant ni une impédance de sortie élevée sur une très large gamme de fréquence. Cela engendre des erreurs dans le maintien de la consigne en courant.

Les principales erreurs dans un système de mesure quatre pointes proviennent de la tension de mode commun et de l'impédance de sortie de la source de courant.

La *Figure 6* met en exergue l'effet de l'impédance de sortie Z_{OUT} sur le courant de charge I_L . Cette impédance de sortie génère un courant I_{OUT} . Cette impédance de sortie joue donc un rôle dans la précision de la source de courant. Le courant de charge I_L est donnée par l'équation suivante :

$$I_L = \frac{I}{1 + \frac{(2Z_E + R_L)}{Z_{OUT}}} \quad (\text{A B.2})$$

Si l'impédance de sortie Z_{OUT} est infinie alors le courant de charge I_L est égal au courant de la source de courant I .

L'autre source d'erreur des circuits de contrôle est la tension de mode commun. Cette tension apparaît entre l'électrode à la masse d'impédance Z_E et la charge R_L . Cette différence de potentiel apparaissant entre la masse et les entrées de l'électronique de sortie est souvent amplifiée par des montages à amplificateur opérationnel. Ainsi, cette tension de mode commun devient supérieure à la différence de potentiel aux bornes de la charge à déterminer. Cette tension de mode commun doit donc être rejetée par l'amplificateur.

Plusieurs techniques peuvent être utilisées afin de diminuer l'effet indésirable de la tension de mode commun. Une source de courant bipolaire composée elle-même de deux sources de courant contrôlées en opposition de phase [11]. Cependant, cette solution n'est pas parfaite. En effet, une mauvaise correspondance entre les courants de sortie peut engendrer une tension de mode commun aux deux entrées de l'électronique de sortie. De plus, cette perturbation peut aussi être due à une disparité entre les impédances des électrodes de mesure Z_E ou à des capacités parasites à chaque entrée de la source de courant. La tension de mode commun peut aussi être générée par la capacité des câbles connectés à l'électronique de traitement ou encore les impédances d'entrée de ce même circuit.

Plusieurs stratégies peuvent être adoptées afin de réduire ces erreurs :

- Une première méthode consiste à utiliser le signal parcourant l'âme du câble pour piloter le blindage de ce dernier à l'aide d'un amplificateur opérationnel en mode suiveur de tension [12]. Ainsi, l'âme et le blindage du câble se retrouvent au même potentiel empêchant, théoriquement, le courant de circuler à travers la capacité parasite du câble. L'atténuation devient quasiment nulle. De plus, le blindage extérieur du câble est mis à la terre pour éviter tout couplage capacitif. Cependant, les capacités d'entrée parasites relatives à la terre de l'amplificateur opérationnel utilisé comme buffer ne peuvent être compensées par cette technique.
- Une deuxième technique consiste à placer l'électronique de commande au plus près des électrodes de mesure afin de minimiser la longueur des câbles. Ainsi, la capacité parasite de ces câbles est réduite et la gamme de fréquences servant à réaliser les mesures est accrue.

- Enfin, un convertisseur d'impédance négative peut être utilisé afin d'éliminer les capacités parasites à la sortie des sources de courant. Le but est de réaliser une impédance négative équivalente à la capacité parasite en parallèle avec cette dernière [13]. Bertemes-Filho *et al.* ont utilisé cette topologie afin d'améliorer la source de courant de leur système de tomographie à impédance [14].

La mesure du courant de sortie peut aussi être une approche en plus de toutes celles mentionnées précédemment. Cependant, réaliser de telles mesures peut s'avérer particulièrement complexe et peut dégrader la performance du circuit.

La différence de potentiel aux bornes des électrodes placées sur la peau dépend principalement de la composition des tissus et du courant injecté dans la peau. Cependant, la constitution des électrodes ainsi que leur position pourront influencer la précision des mesures. Il est préférable que cette tension soit exempte d'interférence et de bruit. Enfin, ce signal doit être amplifié afin de pouvoir être mesuré avec un ADC.

Les interférences proviennent principalement du 50 Hz provenant du secteur mais aussi de diverses diaphonies. Le 50 Hz est rejeté par le taux de réjection de mode commun des amplificateurs opérationnels et les diaphonies par les filtres. En outre, le bruit et les artefacts proviennent, également, de l'impédance des électrodes et du mouvement des électrodes.

Il est possible de minimiser l'impédance des électrodes grâce à un système tétrapolaire sans pour autant la rejeter totalement.

Pour mesurer la différence de potentielle obtenue entre les électrodes de mesure sur la peau, les amplificateurs opérationnels utilisés ont souvent des entrées différentielles et une autre entrée servant de potentiel de référence. Généralement, ce dernier est la masse et est connecté à une troisième électrode positionnée sur le tissu. La référence à la masse provoque des différences pour le signal mesuré entre la paire d'électrodes de mesure. La moyenne de la tension sur les deux entrées différentielles par rapport à l'électrode de référence constitue la tension de mode commun. Il est important que l'amplificateur opérationnel rejette cette tension de mode commun avec un taux de réjection du mode commun élevé, possède un faible bruit et des impédances d'entrée élevées.

En pratique, la plupart des signaux biomédicaux sont mesurés à l'aide d'amplificateurs de mesure. Ces derniers sont des blocs de gain en boucle fermée qui possèdent une entrée différentielle et une sortie simple par rapport à un terminal de référence [15]. Ils sont réalisés à l'aide d'un ou plusieurs amplificateurs opérationnels. Deux amplificateurs servent à la pré amplification suivis par un amplificateur à entrées différentielles et à sortie unique. Ce dernier permet la réduction du signal de mode commun tandis que les deux premiers amplificateurs de la chaîne fournissent une impédance d'entrée élevée.

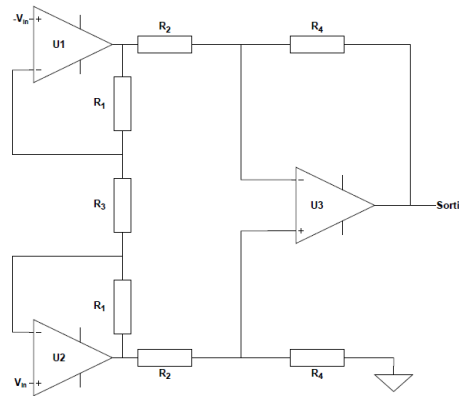


Figure 7 : Amplificateur de mesure

La Figure 7 présente un exemple de configuration d'amplificateur de mesure qui consiste en trois amplificateurs opérationnels. Les différentes résistances utilisées doivent être des résistances de haute précision. Il s'agit d'obtenir un taux de rejection du mode commun le plus élevé possible.

Le gain total G du montage de la Figure 7 est :

$$G = \frac{R_4}{R_2} \left(1 + \frac{2R_1}{R_3} \right) \quad (\text{A B.3})$$

Le bruit est aussi une problématique majeure dans les systèmes de spectroscopie d'impédance. L'utilisation de switch dans de tels systèmes les rend d'autant plus vulnérable au bruit notamment pour de hautes fréquences. Généralement, pour les systèmes à multi-électrodes, des multiplexeurs analogiques sont utilisés. Ces derniers dégradent la précision des mesures en hautes fréquences à cause de leurs capacités d'entrée et de sortie. En outre, à cause de ces commutateurs, des capacités parasites de traversée entre les circuits d'excitation et de traitement apparaissent. Ces capacités dégradent les performances du système de mesure surtout pour les hautes fréquences.

De nombreux systèmes de spectroscopie d'impédance utilisent des amplificateurs opérationnels positionnés avant les électrodes de mesure comme buffer. Ceci permet d'augmenter l'impédance d'entrée et de réduire les courants traversant les capacités parasites des câbles et des différents multiplexeurs. Cependant, ces amplificateurs opérationnels possèdent aussi des capacités d'entrée parasitant les mesures notamment aux hautes fréquences. Certains chercheurs utilisent des amplificateurs opérationnels avec sur leurs entrées des transistors FET dont le courant de polarisation est d'environ 10 pA. Les amplificateurs à transistors à effet de champ fournissent une tension à faible bruit.

Afin d'annuler ces capacités parasites, des convertisseurs d'impédance négative peuvent être utilisés. Ils sont généralement placés à l'entrée des circuits de traitement des données [16]. Ils doivent, cependant, être constamment ajustés afin de réaliser des mesures précises.

Les systèmes de spectroscopie d'impédance doivent présenter certaines spécifications. Pour une tension d'entrée sinusoïdale donnée, l'amplitude du courant de sortie des sources de courant contrôlées en tension monopolaires doivent rester constante avec un écart nominal maximale de 1 % par rapport à la consigne sur une bande de fréquences entre 1 kHz et 1 MHz. L'amplitude du courant de sortie doit aussi rester constante au regard de la charge comprise entre 50 Ω et 50 k Ω . Pour les sources bipolaires, la tolérance doit être de 0,1 %.

Une autre spécification à prendre en considération dans le développement de systèmes de mesure d'impédance est l'impédance de sortie des sources de courant. Elle doit être nettement supérieure à celle du tissu à caractériser avec l'impédance des électrodes [1]. Généralement, il est conseillé d'avoir une impédance de sortie 100 fois supérieure aux fréquences très élevées, c'est-à-dire de l'ordre de 1 MHz.

L'impédance d'entrée doit être supérieure à 100 k Ω dans la gamme de fréquences comprise entre 1 KHz et 1 MHz.

Les signaux de mode commun doivent rester aussi faibles que possible en utilisant des amplificateurs opérationnels ayant un taux de réjection du mode commun de l'ordre de 80 dB sur une large gamme de fréquences. En supposant que le signal mesuré le plus petit soit de l'ordre de 1 mV_{p-p}, les tensions de mode commun doivent être inférieures à 10 μ V_{p-p}. Le bruit en tension doit être au maximum de 1 % du signal biologique caractérisé.

Plusieurs systèmes permettant de déterminer l'impédance de tissus ont été développés au cours de ces dernières années. Ceux les plus couramment utilisés sont les ponts auto équilibrés, les analyseurs d'impédance, ou encore des amplificateurs à détection synchrone (*lock in amplifier*) ([17], p. 295). D'autres circuits à façon ont été développées dans la littérature.

Ponts auto équilibrés

Le principe des ponts auto équilibrés est de connecter une impédance inconnue $Z_{unknown}$ à trois autres impédances connues Z_1 , Z_2 et Z_3 . En équilibrant le pont pour que le signal mesuré par le détecteur soit égal à 0 alors l'impédance de l'échantillon testé $Z_{unknown}$ est déterminée par la relation suivante :

$$Z_1 Z_3 = Z_2 Z_{unknown} \quad (\text{A B.4})$$

Cependant, réaliser l'équilibrage du pont pour plusieurs fréquences est consommateur de temps et est donc plus adaptée pour des mesures uniques à basse fréquence [18].

Amplificateurs à détection synchrone

Ces amplificateurs sont utilisés habituellement pour détecter des signaux faibles noyés dans le bruit. Cela n'est, cependant, possible que si le signal d'intérêt apparaît comme modulation d'amplitude sur une fréquence de référence donnée. Un amplificateur à détection synchrone idéal ne détectera le signal d'entrée que si ce dernier possède les mêmes fréquences et phases que le signal de référence.

Le fonctionnement des amplificateurs à détection synchrone repose sur la multiplication de deux sinusoïdes, l'une étant le signal modulant contenant l'information modulée en amplitude et l'autre étant le signal de référence avec la phase et la fréquence choisie.

Soit $V_r(t)$ le signal de référence sinusoïdale (l'amplitude du signal sera supposément égal à 1). Il s'exprime alors de la façon suivante :

$$V_r(t) = \sin(\omega_r t) \quad (\text{A B.5})$$

Le signal d'entrée est :

$$V_{in}(t) = V_{in} \sin(\omega_i t + \varphi) \quad (\text{A B.6})$$

Le signal de sortie V_{out} sera, donc :

$$V_{out}(t) = V_{in} \sin(\omega_r t) \sin(\omega_i t + \varphi) \quad (\text{A B.7})$$

$$V_{out}(t) = \frac{V_i}{2} [\cos((\omega_r - \omega_i)t - \varphi) - \cos((\omega_r + \omega_i)t + \varphi)] \quad (\text{A B.8})$$

Après le module de multiplication, un filtre passe bas est positionné et permet d'éliminer la partie haute fréquence de l'expression (A B.8) correspondant à $\cos((\omega_r + \omega_i)t + \varphi)$. Au final, le seul signal continu qui apparaîtra à la sortie du filtre passe-bas est celui correspondant à $\omega_i = \omega_r$. Ainsi, on obtient :

$$X = \frac{V_i}{2} \cos(\varphi) \quad (\text{A B.9})$$

Seulement, il est nécessaire de connaître le déphasage φ entre le signal de référence $V_r(t)$ et le signal d'entrée $V_i(t)$. Les amplificateurs à détection synchrone contournent ce problème en utilisant un second multiplieur dont l'une des entrées est le signal de référence déphasé de 90° , soit $V_{r,2}(t) = \cos(\omega_r t)$. Ainsi, en sortie du deuxième filtre passe bas, on obtient :

$$Y = \frac{V_i}{2} \sin(\varphi) \quad (\text{A B.10})$$

Un amplificateur à détection synchrone est particulièrement adapté pour des mesures d'immittance. Un exemple d'architecture d'un tel amplificateur est donné à la *Figure 8*.

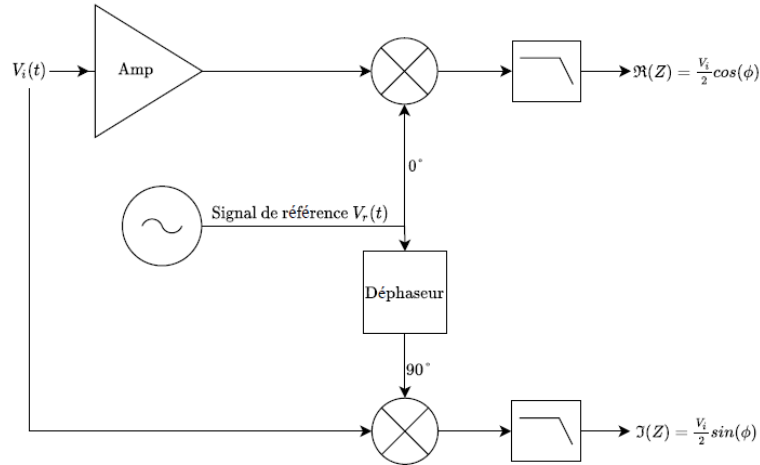


Figure 8 : Schéma d'un amplificateur à détection synchrone

Le signal d'entrée $V_i(t)$ est d'abord amplifié puis multiplié par le signal de référence $V_r(t)$ et par ce signal déphasé de 90° . Les sorties des deux multiplieurs sont ensuite filtrées afin d'éliminer le bruit et la composante 2ω .

Si le signal d'excitation est une tension, alors le courant généré devra être converti en tension à l'aide, par exemple, d'un amplificateur transimpédance. Dans ce cas, les sorties continues d'un amplificateur à détection synchrone seront proportionnelles à l'admittance parallèle de l'objet caractérisé autrement dit, respectivement, la conductance et la susceptance. Si un courant est utilisé comme source d'excitation cela produira une différence de potentiel pouvant être séparée en signaux proportionnels à l'impédance de l'objet mesuré, résistance et réactance.

Il existe deux types d'amplificateur à détection synchrone : analogique et numérique. Les amplificateurs digitaux sont plus flexibles et précis. Cependant, les amplificateurs analogiques sont moins énergivores et fonctionnent à des fréquences plus élevées.

Amplificateur à détection synchrone numérique

Les amplificateurs à détection synchrone numériques effectuent une multiplication numérique des signaux d'entrée et des signaux de référence. Cette multiplication est de haute précision. En outre, il est nécessaire d'adjoindre un convertisseur analogique numérique à haute performance avec une grande résolution (16 – 18 bits) et à grande vitesse avec un taux d'échantillonnage élevé de l'ordre de 10 MHz. Cela permet d'atteindre une grande plage dynamique de l'ordre de 80 à 100 dB [17].

Ces amplificateurs digitaux n'ont pas, théoriquement, de limites en basse fréquence. Les amplificateurs commerciaux fonctionnent généralement en dessous du mHz. Cependant, certains modèles comme le Solartron SI1260 peuvent effectuer des mesures jusqu'à 10 μ Hz.

La fréquence la plus élevée permettant de réaliser une mesure est de 100 kHz. Cette fréquence est limitée par le temps de conversion du CAN. Au-dessous de cette fréquence, un sous-échantillonnage hétérodyne peut être mis en place étendant ainsi, par exemple, la gamme de fréquences de mesure du Solartron SI1260 jusque 32 MHz.

Amplificateur à détection synchrone analogique

Le cœur d'un tel amplificateur est le redresseur synchrone comprenant un détecteur sensible à la phase de l'impédance et d'un filtre passe bas. Un signal de référence rectangulaire est, généralement, utilisé pour contrôler un interrupteur analogique. La multiplication par un signal de référence carré est réalisée et un filtre passe bas permet de moyenner.

Le détecteur sensible à la phase se compose d'un inverseur et d'un switch analogique comme le montre la *Figure 9*.

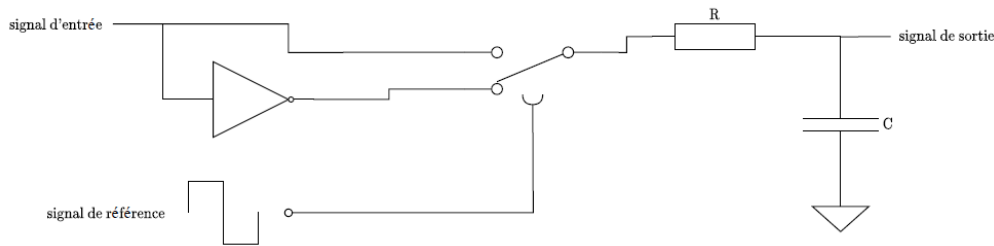


Figure 9 : Architecture d'un détecteur sensible à la phase

Le switch de la *Figure 9* est conçu pour passer un temps égal dans chaque position. Si cet interrupteur passe de la position inférieure à la position supérieure à l'instant où le signal d'entrée sinusoïdal passe d'une alternance positive à une alternance négative alors le signal en sortie du switch sera composé du signal sinusoïdal d'entrée redressé. Le filtre passe-bas permet ensuite de lisser cette tension.

Les amplificateurs à détection synchrone ont une limite basse de fréquence d'environ 1 Hz en raison de la nécessité d'entrées AC couplées. Les signaux AC doivent être le plus pur possible car tout signal continu peut influencer les résultats. La limite supérieure des fréquences de mesure de cet équipement analogique est comprise entre 100 kHz et 1 MHz et est limitée par les capacités parasites. La gamme dynamique peut atteindre plus de 100 dB.

Amplificateur microélectronique à détection synchrone

Aujourd'hui, les amplificateurs microélectroniques à détection synchrone se basent sur des circuits intégrés à signaux mixtes combinant à la fois un traitement numérique et analogique. Le traitement du signal s'est, principalement, limité à la manipulation de tensions électriques, et les courants électriques sont convertis en tension dans les instruments de mesure. En outre, en microélectronique, réaliser le traitement de signaux sur les courants s'avère plus efficace [19].

Les amplificateurs à détection synchrone analogiques sont utilisés en mode courant car les courants peuvent être pilotés avec de faibles tensions notamment dans les circuits de commutation discret. Ceci permet de rester avec des niveaux de courant relativement faibles de l'ordre du pico- ou microampère pour des signaux à dynamique élevée. Ainsi, des circuits microélectroniques à faible consommation commandés par des tensions inférieures à 5V fournies par des batteries peuvent être développés et fabriqués. Les problèmes de précision de mesure introduits par les capacités parasites se trouvent réduits à haute fréquence notamment à

cause de la réduction de leurs temps de charge diminuant, par la même occasion le temps de propagation du signal. Tout ceci permet de réaliser des mesures précises à haute fréquence.

Maya-Hernández *et. al.* [20] ont développé un amplificateur à détection synchrone faible consommation en mode courant.

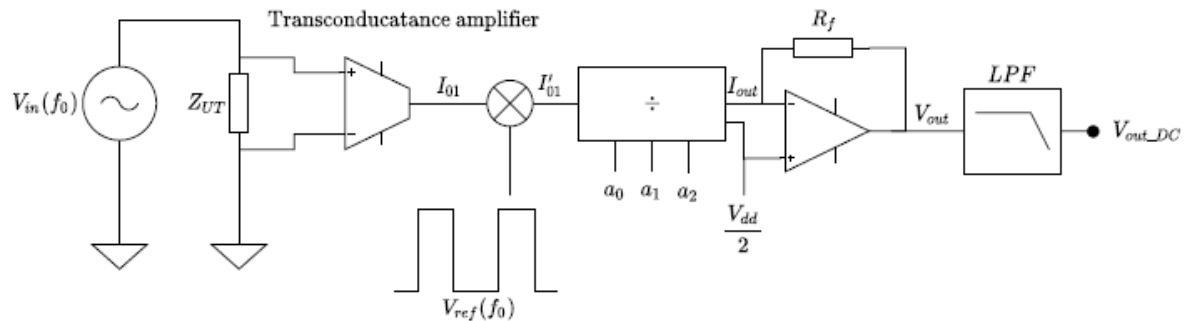


Figure 10 : Topologie d'amplificateur à détection synchrone en mode courant proposé par Paulina M. Maya-Hernández *et. al.* [20]

La Figure 10 présente la topologie adoptée. Elle consiste en un convertisseur courant-tension. Il est associé à un mélangeur de courant qui permet de réaliser la détection sensible à la phase. Le diviseur de courant MOS permet de programmer le gain du système. Enfin, un amplificateur transimpédance permet de convertir le courant de sortie I_{out} en tension pour permettre un traitement ultérieur par un ADC par exemple. Pour éviter l'aliasing, le signal est filtré par un filtre passe-bas.

Les amplificateurs microélectroniques à détection synchrone disponibles dans le commerce sont fabriqués par plusieurs compagnies comme Analog Devices (AD5933/34) ou encore Texas Instruments (AFE4300).

Références

- [1] F. Seoane, R. Macías, R. Bragós et K. Lindecrantz, «Simple voltage-controlled current source for wideband electrical bioimpedance spectroscopy: circuit dependences and limitations,» *Measurement Science and Technology*, 2011.
- [2] J. J. Ackmann, «Complex Bioelectric Impedance Measurement System for the Frequency Range from 5 Hz to 1 MHz,» *Annals of Biomedical Engineering*, 1993.
- [3] R. Bragos, J. Rosell et P. Riu, «A wide-band AC-coupled current source for electrical impedance tomography,» *Physiological Measurement*, vol. 15, 1994.

- [4] J. Liu, X. Qiao, M. Wang, W. Zhang, G. Li et L. Lin, «The differential Howland current source with high signal to noise ratio for bioimpedance measurement system,» *Review of Scientific Instruments*, 2014.
- [5] B. Wilson, «A Low-Distortion Bipolar Feedback Current AmpWir Technique,» *Proceedings of the IEEE*, vol. 69, n° 111, pp. 1514-1515, 1981.
- [6] C. W. Denyer, F. I. Lidgley, Q. S. Zhu et C. N. McLeod, «High output impedance voltage controlled current source for bio-impedance instrumentation,» *Proceedings of the 15th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Societ.*, pp. 1026-1027, 1993.
- [7] M. Khalighi et M. Mikaeili, «A floating wide-band current source for electrical impedance tomography,» *Review of Scientific Instruments*, vol. 89, n° 18, 2018.
- [8] P. Horowitz et W. Hill, *The art of Electronics ; 3rd Edition*, Cambridge University Press, 2015.
- [9] L. Lue, «Aspects of an electrical impedance tomography spectroscopy (EITS) system,» Thesis, University of Sheffield, 2010.
- [10] P. Bertemes-Filho, A. Felipe et V. C. Vincence, «High Accurate Howland Current Source: Output Constraints Analysis,» *Circuits and Systems*, 2013.
- [11] P. Bertemes-Filho, A. S. Paterno et R. M. Pereira, «Multichannel Bipolar Current Source Used in Electrical Impedance Spectroscopy: Preliminary Results,» *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering*, 2009.
- [12] A. Rich, *Shielding and Guarding*, Analog Devices, Application Note, 1983.
- [13] J. L. Merrill, «Theory of the Negative Impedance Converter,» *The Bell System Technical Journal*, vol. 30, n° 11, 1951.
- [14] P. Bertemes Filho, R. Gonzalez Lima et H. Tanaka, «An Adaptive Current Source using a Negative Impedance Converter (NIC) for Electrical Impedance Tomography (EIT),» *National Congress of Mechanical Engineering*, 2003.
- [15] L. Counts et C. Kitchen, *A Designer's Guide to Instrumentation Amplifiers*, 3rd Edition, Analog Devices, 2006.
- [16] R. Cook, G. Saulnier, D. Gisser, J. Goble, J. Newell et D. Isaacson, «ACT3: A High-speed, High-Precision Electrical Impedance Tomograph,» *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 41, n° 18, pp. 713-722, 1994.
- [17] S. Grimnes et O. Martinsen, *Bioimpedance & Bioelectricity basics ; 3rd edition*, Elsevier, 2014.

- [18] R. E. Dodde, «Bioimpedance of Soft Tissue Under Compression and Applications to Electrosurgery,» Thesis, University of Michigan, 2011.
- [19] A. Lamlih, «Design of an Integrated Bioimpedance Measurement System for Chronic Monitoring of Biological Tissue Composition,» Thèse, Université de Montpellier, 2018.
- [20] P. M. Maya-Hernández, L. C. Álvarez-Simón, M. T. Sanz-Pascual et B. Calvo-López, «An Integrated Low-Power Lock-In Amplifier and Its Application to Gas Detection,» *Sensors*, vol. 14, 2014.

Annexe C

Un travail exploratoire a été mené afin de développer une plateforme portable de mesure de bioimpédance. Une partie de cette étude a été conduite dans le cadre du stage de fin d'étude par M. Mary.

Le dispositif s'articule autour du circuit intégré AD5933 développé par Analog Devices. Il est dédié à la spectroscopie d'impédance. Les principaux éléments cruciaux de la chaîne de conditionnement de la méthode de spectroscopie d'impédance sont regroupés au sein d'un boîtier CMS MSOP de 10 broches. De plus, ce circuit est pilotable via *I²C* particulièrement utile pour application embarquée.

Une analyse de la puissance spectrale du courant traversant l'impédance caractérisée. Cette dernière est soumise à une tension d'excitation sinusoïdale d'amplitude et de fréquence connues.

La chaîne de mesure d'impédance de ce circuit intégré est constituée de trois éléments principaux : l'étage d'excitation, de mesure de courant et de calcul de la Transformée de Fourier Discrète du courant résultant mesuré. Le schéma blocs de l'AD5933 est présenté à la figure ci-après (Figure 11).

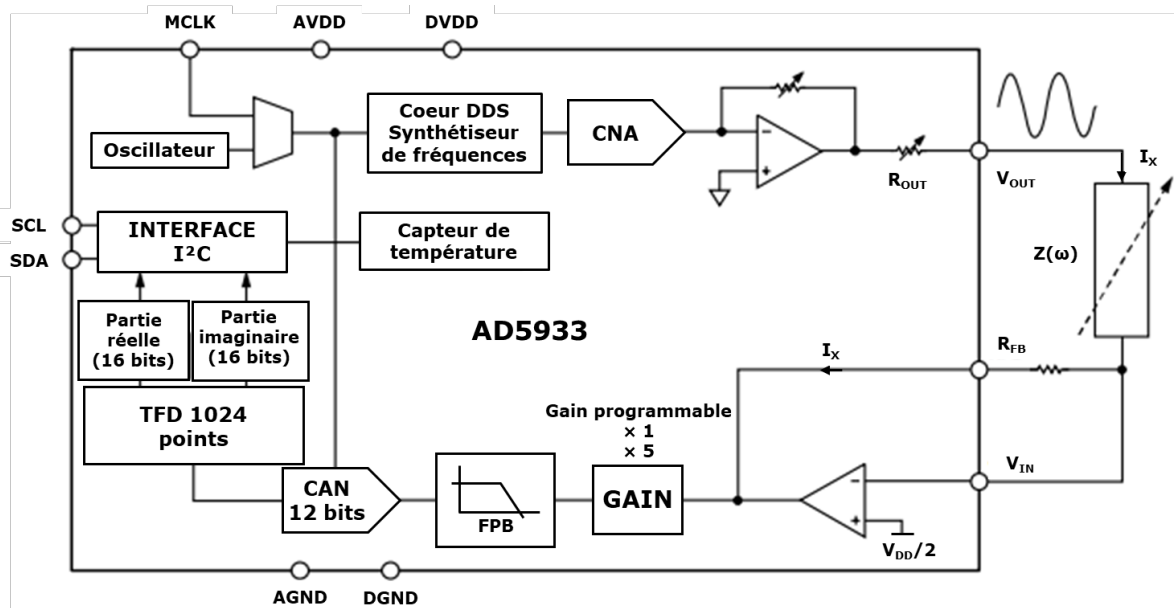


Figure 11 : Schéma blocs du circuit AD5933 d'Analog Devices

Etage d'excitation

L'étage d'excitation servant à générer la tension sinusoïdale devant traverser l'impédance à caractériser est constitué, d'abord, d'un synthétiseur de fréquences DDS (*Direct Digital Synthesis*) de 27 bits. La synthèse numérique directe est une méthode de production d'un signal analogique par génération d'un signal variable dans le temps sous forme numérique, puis en effectuant une conversion numérique analogique. La fréquence de signal est programmable par

l'utilisateur via le bus I²C. L'étage d'excitation comprend, ensuite, un convertisseur numérique analogique (CNA) puis d'un étage de gain. Ce dernier est également programmable via le bus I²C. La fréquence maximale du signal d'excitation est de 100 kHz. Quatre amplitudes d'excitation sont programmables : 1,98 V_{pp}, 0,97 V_{pp}, 383 mV_{pp} et 198 mV_{pp}. Le synthétiseur de fréquence fournit également les signaux *cos* et *sin* indispensables pour réaliser l'algorithme de transformée de Fourier discrète.

Etage de mesure du courant

Cet étage permet de mesurer le courant I_X traversant l'impédance Z_X à caractériser (Figure 11). Il se compose d'un amplificateur en montage transimpédance suivi d'un gain programmable via I²C. Le courant I_X circulant dans la résistance provoque une différence de potentiel à la sortie de cet amplificateur. Cette résistance est fixée par l'utilisateur étant extérieure au circuit. La tension amplifiée passe par un filtre passe-bas puis est convertie en signal numérique sur 12 bits (CAN 12 bits).

Algorithme de calcul de la Transformée de Fourier Discrète (TFD)

Cet algorithme implanté dans l'AD5933 calcule la puissance du signal numérique à la fréquence d'excitation générée par le synthétiseur de fréquence. L'expression de cet algorithme est la suivante :

$$\underline{X} = \sum_{n=0}^{1023} x(n) (\cos(2\pi f \cdot T_e \cdot n) - j \sin(2\pi f \cdot T_e \cdot n)) \quad (\text{A C.1})$$

La grandeur T_e désigne la période d'échantillon. Le CAN fournit les échantillons numériques $x(n)$. Les vecteurs de test $\cos(2\pi f \cdot T_e \cdot n)$ et $\sin(2\pi f \cdot T_e \cdot n)$ sont fournis par le synthétiseur de fréquences. Ainsi, les fréquences d'analyse et d'excitation sont identiques. Un temps de stabilisation suffisant est garanti via la programmation, par l'intermédiaire du bus I²C, d'un nombre de cycles antérieur au début du calcul de la TFD. En outre, il faut que le fenêtrage temporel qui est réalisé sur les 1024 échantillons comprenne un nombre entier de périodes du signal d'excitation. En effet, la valeur résultante calculée risque de présenter des erreurs.

Examinons maintenant comment est déterminé l'impédance complexe à partir du calcul de la TFD. Soit $\underline{Z}$ l'impédance complexe à déterminer. On désigne par $\underline{I}$ le courant complexe circulant dans cette impédance. Ainsi par la loi d'Ohm complexe, on obtient :

$$\underline{I} = \frac{\underline{U}_{OUT}}{\underline{Z}} \quad (\text{A C.2})$$

La grandeur $\underline{U}_{OUT}$ correspond à la tension d'excitation (Figure 11).

L'expression (A C.1) correspond à la TFD du courant mesuré à la fréquence d'excitation donnée à un facteur près $\underline{k}$. Ce facteur dépend du gain programmé, de la résistance de conversion R_{FB} (Figure 11), et du facteur de conversion du convertisseur analogique numérique. Ainsi, on obtient :

$$\underline{X} = \underline{k} \cdot \underline{I} = k \cdot \frac{U_{OUT}}{\underline{Z}} \quad (\text{A C.3})$$

La grandeur $k \cdot U_{OUT}$ est constante pour un réglage donné. Ainsi la valeur $\underline{X}$ dépend directement de l'impédance à caractériser $\underline{Z}$. Il est donc nécessaire de calibrer le circuit intégré avant de mesurer une impédance. Analog Devices recommande d'utiliser une résistance discrète dans sa note d'application AN-1252.

Annexe D

Un premier prototype de carte électronique intégrant la puce AD5933 a été réalisée.

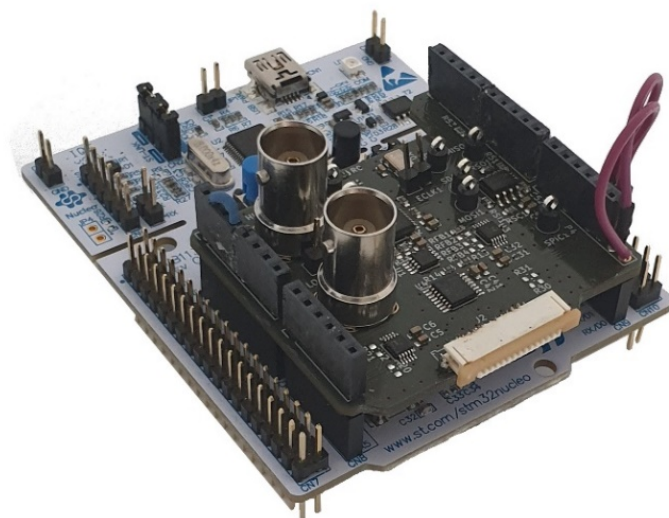


Figure 12 : Premier prototype de carte de mesure d'impédance connecté à la carte de développement NUCLEO-L053R8

Le schéma blocs de la carte de mesure de bioimpédance portable est présenté à la figure ci-après (Figure 13).

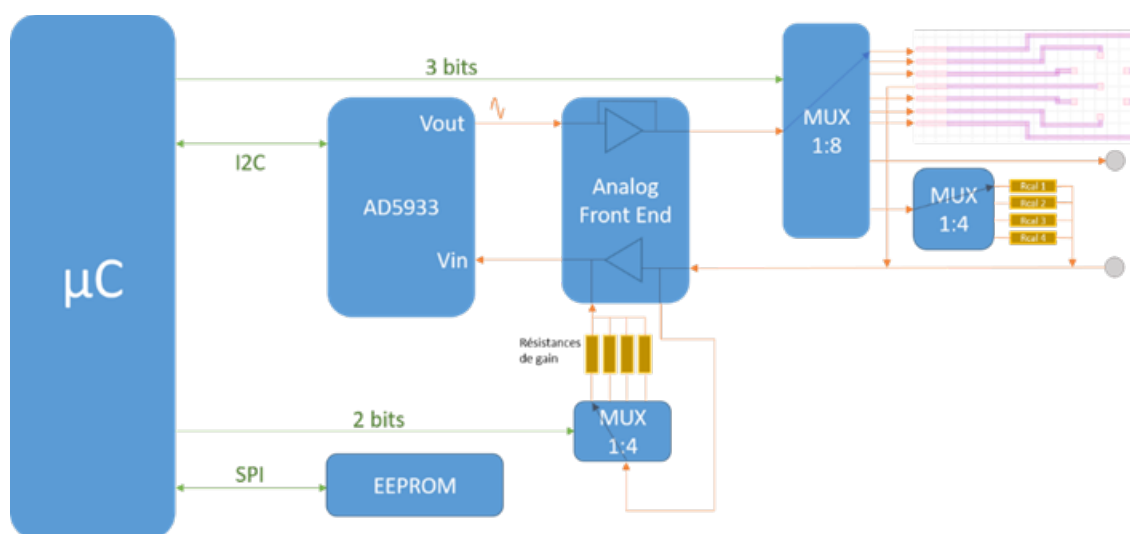


Figure 13 : Schéma bloc de la carte de mesure d'impédance

Le microcontrôleur est le STM32L053R8. Il s'agit d'un microcontrôleur 32 bits ultra basse consommation adapté pour notre application de diagnostic embarqué.

L'EEPROM de 32 ko permet de stocker des mesures de bioimpédance pour réaliser par exemple un suivi de cicatrisation sur plusieurs jours. Elle est contrôlée par liaison SPI.

Deux multiplexeurs 1:4 (ADG804 Analog Devices) permettent de faire varier résistances de conversion R_{FB} et de calibration. La résistance On est, typiquement, de 0,5 Ω .

Le multiplexeur 1:8 (NX3L4051 NXP) permet de balayer l'ensemble des couples d'électrodes flexibles permettant de réaliser, par exemple, une mesure d'impédance de tissus vivants. La résistance On vaut 0,5 Ω .

Analog Devices conseille d'ajouter deux amplificateurs opérationnels entre le signal d'excitation pin V_{OUT} et la pin V_{IN} . Ces derniers permettent de réduire l'impédance de sortie de la partie génération du signal d'excitation et de polariser la tension d'excitation.

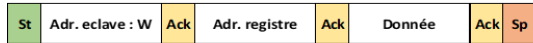
Le contrôle de l'AD5933 se fait par l'intermédiaire de différents registres.

Tableau 1 : Registres du circuit intégré AD5933

Registre	Nom	Données	Fonction
0x80 0x81	Contrôle	D15 à D8 D7 à D0	Lecture/Ecriture Lecture/Ecriture
0x82 0x83 0x84	Fréquence de départ	D23 à D16 D15 à D8 D7 à D0	Lecture/Ecriture Lecture/Ecriture Lecture/Ecriture
0x85 0x86 0x87	Pas en fréquence	D23 à D16 D15 à D8 D7 à D0	Lecture/Ecriture Lecture/Ecriture Lecture/Ecriture
0x88 0x89	Nombre de pas	D15 à D8 D7 à D0	Lecture/Ecriture Lecture/Ecriture
0x8A 0x8B	Nombre de cycles de stabilisation	D15 à D8 D7 à D0	Lecture/Ecriture Lecture/Ecriture
0x8F	Etat	D7 à D0	Lecture
0x92 0x93	Données de température	D15 à D8 D7 à D0	Lecture Lecture
0x94 0x95	Partie réelle de l'impédance	D15 à D8 D7 à D0	Lecture Lecture
0x96 0x97	Partie imaginaire de l'impédance	D15 à D8 D7 à D0	Lecture Lecture

Cinq types de trame différents sont utilisés pour le protocole I²C de l'AD5933 afin d'écrire et de lire dans ces registres (Figure 14).

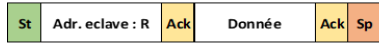
Ecriture dans un registre



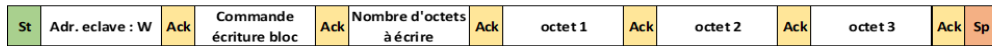
Attribution d'une adresse au pointeur



Lecture d'un registre



Ecriture dans plusieurs registres



Lecture de plusieurs registres

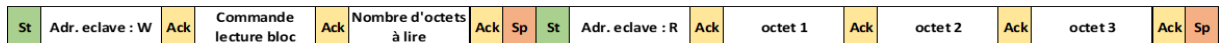
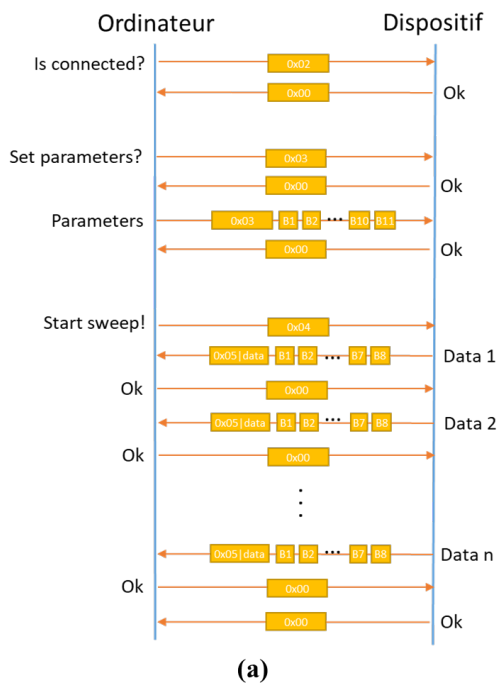


Figure 14 : Les différentes trames de communication I²C de l'AD5933

Le protocole de communication (Figure 15 (a)) entre le dispositif électronique et l'ordinateur mis en place repose sur des codes de fonction sur un octet commun à ces derniers (Figure 15 (b)).



Codes fonctions de communication	
0x00	OK
0x01	Erreur
0x02	Dispositif connecté ?
0x03	Les paramètres sont-ils spécifiés ?
0x04	Débuter le balayage en fréquence
0x05	Données

(b)

Figure 15 : (a) Protocole de communication entre l'ordinateur et le dispositif portable de mesure de bioimpédance (b) Les différents codes des fonctions de communication

Les codes 0 et 1 signalent si la dernière commande a été réalisée avec succès ou non. Les codes 2 à 4 sont toujours transmis par l'ordinateur. Le code 2 teste la connexion avec le microcontrôleur et vérifie si le circuit AD5933 est prêt. Le code 3 est envoyé une première fois pour demander au microcontrôleur s'il est prêt à recevoir les paramètres. Si le code 0 est reçu, le code 3 est renvoyé une deuxième fois suivi d'une trame contenant les paramètres de balayage : fréquence de départ, pas en fréquence, nombre de pas et nombre de cycles de stabilisation (Figure 15).

Le code 4 commande le lancement du balayage en fréquence. Quand le microcontrôleur reçoit le code 4, il effectue la première mesure d'impédance et renvoie ces données dans un paquet avec le code fonction 5 et attend un code 0. Après que l'ordinateur ait répondu, le microcontrôleur recommence, jusqu'à ce que le balayage soit terminé. A la réception du dernier code 0, le microcontrôleur, transmet, également, un code 0 indiquant que le balayage en fréquence est terminé.

Une interface graphique a été développée afin de paramétrer le circuit intégré AD5933 plus aisément et de pouvoir récupérer et visualiser les données d'impédance (Figure 16).

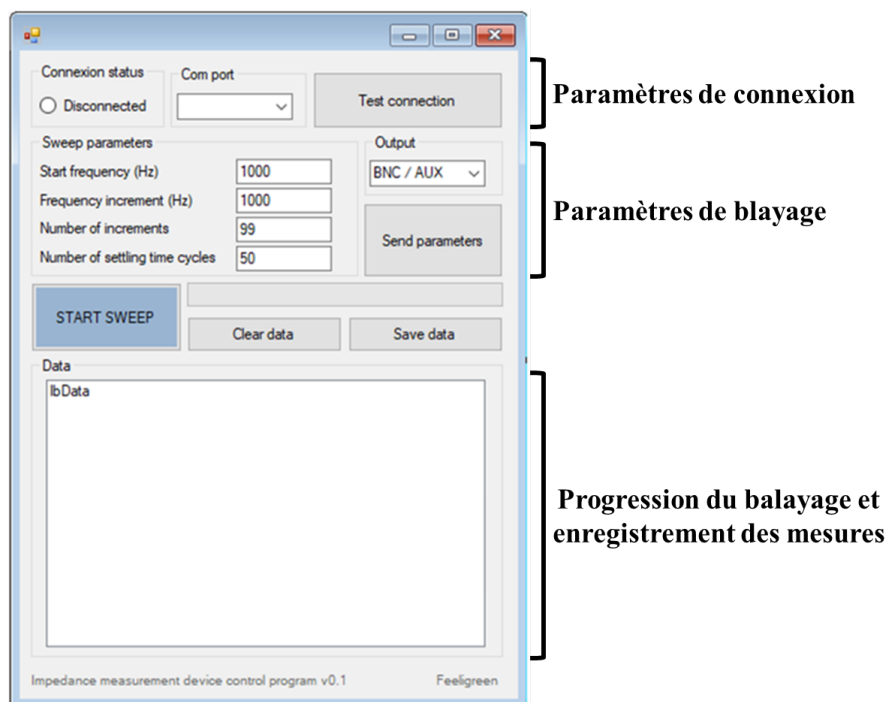


Figure 16 : Interface graphique permettant de paramétrer l'AD5933, de lancer la mesure et de visualiser et sauvegarder les résultats

Annexe E

Sources code embarqué AD5933

```
1  #include <feeligreen_ad5933.h>
2  #include "math.h"
3
4  // Test
5  #include <stdio.h>
6
7  I2C_HandleTypeDef* hi2c;
8
9  UART_HandleTypeDef* huart;
10
11  uint8_t msg3[100];
12
13  uint8_t range = 0;
14  uint32_t rCalVal[NB_RNG];
15
16  PIN outSlct[3];
17  PIN rfbSlct[2];
18  PIN calSlct[2];
19
20  // Fonction principale
21
22  AD5933_StatusTypeDef AD5933_Process(AD5933_HandleTypeDef* device, I2C_HandleTypeDef* hdevi2c,
    UART_HandleTypeDef* hdevuart)
23  {
24      IMPEDANCE measures[NB_MEAS];
25      AD5933_StatusTypeDef ret;
26
27      AD5933_Init(device);
28
29      hi2c = hdevi2c;
30      huart = hdevuart;
31
32      // > Configuration AD5933
33      ret = AD5933_SetControlRegH(device);
34      if(ret!=AD5933_OK)return ret;
35      ret = AD5933_SetControlRegL(device);
36      if(ret!=AD5933_OK)return ret;
37      ret = AD5933_SetParam(device);
38      if(ret!=AD5933_OK)return ret;
39
40      // > Mode StandBy
41      ret = AD5933_ConfigMode(device, CM_STANDBY);
42      if(ret!=AD5933_OK)return ret;
43
44      HAL_UART_Transmit(huart, (uint8_t*)"Ready!\n\r", 8, UART_TIME_OUT);
45
46      while(1)
47      {
48          HAL_GPIO_WritePin(GPIOA, GPIO_PIN_5, GPIO_PIN_SET);
49          while (HAL_GPIO_ReadPin(GPIOC, GPIO_PIN_13) != GPIO_PIN_RESET) {}
50          while (HAL_GPIO_ReadPin(GPIOC, GPIO_PIN_13) != GPIO_PIN_SET) {}
51          HAL_GPIO_WritePin(GPIOA, GPIO_PIN_5, GPIO_PIN_RESET);
52
53          // > Start Frequency Sweep
54          ret = AD5933_PerformSweep(device, measures, OUT_ZALT);
55          if(ret!=AD5933_OK)return ret;
56      }
57
58      // > Mode Power Down
59      ret = AD5933_ConfigMode(device, CM_POW_DOWN);
60      return ret;
61  }
62
63  // Fonctions de communication
64
65  AD5933_StatusTypeDef AD5933_I2C_WriteB(AD5933_HandleTypeDef* device, uint8_t regAdd, uint8_t regVal)
66  {
67
68      if(HAL_I2C_Mem_Write(hi2c, device->devAdress|I2C_REQ_WRITE, regAdd, I2C_MEMADD_SIZE_8BIT, &regVal, 1, I2C_TI
    ME_OUT) !=HAL_OK)
69      { return AD5933_I2C_FAILURE; }
70      return AD5933_OK;
71
72  }
73  AD5933_StatusTypeDef AD5933_I2C_ReadB(AD5933_HandleTypeDef* device, uint8_t regAdd, uint8_t* regVal)
74  {
75      if (AD5933_I2C_SetRegPointer(device, regAdd) !=AD5933_OK)
76      { return AD5933_I2C_FAILURE; }
```

```

75     if (HAL_I2C_Master_Receive(hi2c, device->devAddress | I2C_REQ_READ, regVal, 1, I2C_TIME_OUT) != HAL_OK)
76     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
77     return AD5933_OK;
78 }
79
80 AD5933_StatusTypeDef AD5933_I2C_WriteN(AD5933_HandleTypeDef* device, uint8_t regAdd, uint8_t nbVal,
uint8_t* regVal)
81 {
82     uint8_t i;
83     uint8_t dataToSend[I2C_BUFFER_SIZE];
84
85     if (AD5933_I2C_SetRegPointer(device, regAdd) != AD5933_OK)
86     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
87
88     dataToSend[0] = I2C_BLOCK_WRITE;
89     dataToSend[1] = nbVal;
90     for (i = 0; i < nbVal; i++)
91     {
92         dataToSend[i+2] = regVal[i];
93     }
94
95     if (HAL_I2C_Master_Transmit(hi2c, device->devAddress | I2C_REQ_WRITE, dataToSend, nbVal+2, I2C_TIME_OUT) != HAL_
OK)
96     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
97     return AD5933_OK;
98 }
99 AD5933_StatusTypeDef AD5933_I2C_ReadN(AD5933_HandleTypeDef* device, uint8_t regAdd, uint16_t nbVal,
uint8_t* regVal)
100 {
101     uint8_t cmdToSend[2];
102     if (AD5933_I2C_SetRegPointer(device, regAdd) != AD5933_OK)
103     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
104
105     cmdToSend[0] = I2C_BLOCK_READ;
106     cmdToSend[1] = nbVal;
107
108     if (HAL_I2C_Master_Transmit(hi2c, device->devAddress | I2C_REQ_WRITE, cmdToSend, 2, I2C_TIME_OUT) != HAL_OK)
109     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
110
111     if (HAL_I2C_Master_Receive(hi2c, device->devAddress | I2C_REQ_READ, regVal, nbVal, I2C_TIME_OUT) != HAL_OK)
112     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
113     return AD5933_OK;
114 }
115
116
117 AD5933_StatusTypeDef AD5933_I2C_SetRegPointer(AD5933_HandleTypeDef* device, uint8_t regAdd)
118 {
119     uint8_t cmdToSend[2];
120     cmdToSend[0] = I2C_ADD_POINTER;
121     cmdToSend[1] = regAdd;
122     if (HAL_I2C_Master_Transmit(hi2c, device->devAddress | I2C_REQ_WRITE, cmdToSend, 2, I2C_TIME_OUT) != HAL_OK)
123     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
124     return AD5933_OK;
125 }
126
127
128 // Fonctions de configuration
129
130 void AD5933_Init(AD5933_HandleTypeDef* device)
131 {
132     device->devAddress          = AD5933_ADD;
133     device->sysClockValue       = INT_OSCILLATOR;
134     device->controlReg          = INT_SYS_CLK | PGA_GAIN_X1 | OVR_2VPP | CM_NO_OP;
135     device->startFrequency      = START_FREQ;
136     device->frequencyIncrement  = INC_FREQ;
137     device->nbIncrements        = NB_OF_INC;
138     device->nbSettlingTimeCycles = NB_OF_STC;
139     device->nbMeasMean          = NB_MEAS_MEAN;
140
141     rCalVal[0] = RCAL_0;
142     rCalVal[1] = RCAL_1;
143     rCalVal[2] = RCAL_2;
144     // rCalVal[3] = RCAL_3;
145     AD5933_InitGPIO();
146 }
147

```

```

148
149 void AD5933_InitGPIO()
150 {
151     outSlct[0].port=GPIOB;
152     outSlct[1].port=GPIOB;
153     outSlct[2].port=GPIOB;
154     outSlct[0].pin=GPIO_PIN_10;
155     outSlct[1].pin=GPIO_PIN_4;
156     outSlct[2].pin=GPIO_PIN_5;
157
158     rfbSlct[0].port=GPIOB;
159     rfbSlct[1].port=GPIOB;
160     rfbSlct[0].pin=GPIO_PIN_13;
161     rfbSlct[1].pin=GPIO_PIN_14;
162
163     calSlct[0].port=GPIOC;
164     calSlct[1].port=GPIOC;
165     calSlct[0].pin=GPIO_PIN_0;
166     calSlct[1].pin=GPIO_PIN_1;
167 }
168
169 AD5933_StatusTypeDef AD5933_EditControlReg(AD5933_HandleTypeDef* device,uint16_t mask, uint16_t value)
170 {
171     uint16_t temp;
172     if((value&mask)!=0)
173     { return AD5933_WRONG_VALUE;}
174     temp = device->controlReg&mask;
175     device->controlReg = temp|value;
176
177     return AD5933_OK;
178 }
179
180 AD5933_StatusTypeDef AD5933_ConfigMode(AD5933_HandleTypeDef* device,uint16_t mode)
181 {
182     AD5933_StatusTypeDef ret;
183     ret = AD5933_EditControlReg(device,MODE_MASK, mode);
184     if(ret==AD5933_OK)
185     {ret = AD5933_SetControlRegH(device);}
186     return ret;
187 }
188
189 AD5933_StatusTypeDef AD5933_ConfigOutputVoltageRange(AD5933_HandleTypeDef* device,uint16_t ovr)
190 {
191     AD5933_StatusTypeDef ret;
192     ret = AD5933_EditControlReg(device,OVR_MASK,ovr);
193     if(ret==AD5933_OK)
194     {ret = AD5933_SetControlRegH(device);}
195     return ret;
196 }
197
198 AD5933_StatusTypeDef AD5933_ConfigPGA(AD5933_HandleTypeDef* device,uint16_t gain)
199 {
200     AD5933_StatusTypeDef ret;
201     ret = AD5933_EditControlReg(device,PGA_MASK,gain);
202     if(ret==AD5933_OK)
203     {ret = AD5933_SetControlRegL(device);}
204     return ret;
205 }
206
207 AD5933_StatusTypeDef AD5933_ConfigSystemClock(AD5933_HandleTypeDef* device,uint16_t source)
208 {
209     AD5933_StatusTypeDef ret;
210     ret = AD5933_EditControlReg(device,CLK_MASK,source);
211     if(ret==AD5933_OK)
212     {ret = AD5933_SetControlRegL(device);}
213     return ret;
214 }
215 AD5933_StatusTypeDef AD5933_SetControlRegH(AD5933_HandleTypeDef* device)
216 {
217     uint8_t ctrlRegVal[2];
218     ToBytes16(device->controlReg, ctrlRegVal);
219
220     if(AD5933_I2C_WriteB(device,CTRL_RADD,ctrlRegVal[0])!=AD5933_OK)
221     { return AD5933_I2C_FAILURE;}
222     return AD5933_OK;
223 }
224 AD5933_StatusTypeDef AD5933_SetControlRegL(AD5933_HandleTypeDef* device)

```

```

225 {
226     uint8_t ctrlRegVal[2];
227     ToBytes16(device->controlReg, ctrlRegVal);
228
229     if (AD5933_I2C_WriteB(device, CTRL_RADD+1, ctrlRegVal[1]) != AD5933_OK)
230     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
231     return AD5933_OK;
232 }
233 AD5933_StatusTypeDef AD5933_SetParam(AD5933_HandleTypeDef* device)
234 {
235     // Check Sweep Parameters Values
236     if (AD5933_CheckSweepParam(device) != AD5933_OK)
237     { return AD5933_WRONG_VALUE; }
238
239     // Set Start Frequency
240     if (AD5933_SetStartFrequency(device) != AD5933_OK)
241     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
242     // Set Frequency Increment
243     if (AD5933_SetFreqIncrement(device) != AD5933_OK)
244     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
245     // Set Number Of Increments
246     if (AD5933_SetNbIncrement(device) != AD5933_OK)
247     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
248     // Set Number Of Settling Time Cycles
249     if (AD5933_SetNbSettlingTimeCycles(device) != AD5933_OK)
250     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
251
252     return AD5933_OK;
253 }
254
255 AD5933_StatusTypeDef AD5933_CheckSweepParam(AD5933_HandleTypeDef* device)
256 {
257     // Check Start Frequency
258     if (device->startFrequency < FREQ_MIN || device->startFrequency > FREQ_MAX)
259     { return AD5933_WRONG_VALUE; }
260     // Check Frequency Increment
261     if (device->frequencyIncrement == 0 || device->frequencyIncrement + device->startFrequency > FREQ_MAX)
262     { return AD5933_WRONG_VALUE; }
263     // Check Number Of Increments
264
265     if (device->frequencyIncrement * device->nbIncrements + device->startFrequency > FREQ_MAX || device->nbIncremen
266         ts > MAX_9BIT)
267     { return AD5933_WRONG_VALUE; }
268     // Check Number Of Settling Time Cycles Value
269     if (device->nbSettlingTimeCycles == 0 || device->nbSettlingTimeCycles > MAX_9BIT)
270     { return AD5933_WRONG_VALUE; }
271
272     return AD5933_OK;
273 }
274
275 AD5933_StatusTypeDef AD5933_SetStartFrequency(AD5933_HandleTypeDef* device)
276 {
277     uint32_t temp;
278     uint8_t dataToSend[3];
279
280     // Process start frequency
281     temp = (device->startFrequency * 32768 / (device->sysClockValue / 1024)) * 16;
282     ToBytes27(temp, dataToSend);
283     // Send Value
284     if (AD5933_I2C_WriteB(device, FSTART_RADD, dataToSend[0]) != AD5933_OK)
285     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
286     if (AD5933_I2C_WriteB(device, FSTART_RADD+1, dataToSend[1]) != AD5933_OK)
287     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
288     if (AD5933_I2C_WriteB(device, FSTART_RADD+2, dataToSend[2]) != AD5933_OK)
289     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
290
291     return AD5933_OK;
292 }
293
294 AD5933_StatusTypeDef AD5933_SetFreqIncrement(AD5933_HandleTypeDef* device)
295 {
296     uint32_t temp;
297     uint8_t dataToSend[3];
298
299     // Process Frequency Increment
300     temp = (device->frequencyIncrement * 32768 / (device->sysClockValue / 1024)) * 16;
301     ToBytes27(temp, dataToSend);

```

```

300 // Send Value
301 if (AD5933_I2C_WriteB(device, FINC_RADD, dataToSend[0]) != AD5933_OK)
302 { return AD5933_I2C_FAILURE; }
303 if (AD5933_I2C_WriteB(device, FINC_RADD+1, dataToSend[1]) != AD5933_OK)
304 { return AD5933_I2C_FAILURE; }
305 if (AD5933_I2C_WriteB(device, FINC_RADD+2, dataToSend[2]) != AD5933_OK)
306 { return AD5933_I2C_FAILURE; }
307 return AD5933_OK;
308 }
309
310 AD5933_StatusTypeDef AD5933_SetNbIncrement(AD5933_HandleTypeDef* device)
311 {
312     uint8_t dataToSend[2];
313     // Process Number Of Increments
314     ToBytes16(device->nbIncrements, dataToSend);
315     // Send Value
316     if (AD5933_I2C_WriteB(device, NINC_RADD, dataToSend[0]) != AD5933_OK)
317     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
318     if (AD5933_I2C_WriteB(device, NINC_RADD+1, dataToSend[1]) != AD5933_OK)
319     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
320
321     return AD5933_OK;
322 }
323
324 AD5933_StatusTypeDef AD5933_SetNbSettlingTimeCycles(AD5933_HandleTypeDef* device)
325 {
326     uint8_t dataToSend[2];
327     // Process number of settling time cycles (missing parameters)
328     ToBytes16(device->nbSettlingTimeCycles, dataToSend);
329
330     // Send Value
331     if (AD5933_I2C_WriteB(device, NSTC_RADD, dataToSend[0]) != AD5933_OK)
332     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
333     if (AD5933_I2C_WriteB(device, NSTC_RADD+1, dataToSend[1]) != AD5933_OK)
334     { return AD5933_I2C_FAILURE; }
335
336     return AD5933_OK;
337 }
338
339
340 AD5933_StatusTypeDef AD5933_WriteBit(PIN* pins, uint8_t nbPin, uint8_t value)
341 {
342     uint8_t i;
343     GPIO_PinState pinValue;
344
345     if (value <= (uint8_t) (pow(2, (double) (nbPin))))
346     {
347         for (i=0; i<nbPin; i++)
348         {
349             if (((value >> i) & 1) == 1)
350             {
351                 pinValue = GPIO_PIN_SET;
352             }
353             else
354             {
355                 pinValue = GPIO_PIN_RESET;
356             }
357             HAL_GPIO_WritePin(pins[i].port, pins[i].pin, pinValue);
358         }
359         return AD5933_OK;
360     }
361     else
362     {
363         return AD5933_WRONG_VALUE;
364     }
365 }
366
367 AD5933_StatusTypeDef AD5933_SelectOutput(uint8_t output)
368 {
369     return AD5933_WriteBit(outSlct, 3, output);
370 }
371
372 AD5933_StatusTypeDef AD5933_SelectRfb(uint8_t rfb)
373 {
374     return AD5933_WriteBit(rfbSlct, 2, rfb);
375 }
376

```

```

377 AD5933_StatusTypeDef AD5933_SelectCalResistor(uint8_t resistor)
378 {
379     return AD5933_WriteBit(calSlct,2,resistor);
380 }
381
382
383 AD5933_StatusTypeDef AD5933_SelectRange(uint8_t rngNb)
384 {
385     if(rngNb>NB_RNG-1)
386     { return AD5933_WRONG_VALUE;}
387     range = rngNb;
388     if(AD5933_SelectRfb(range)!=AD5933_OK)
389     { return AD5933_ERROR;}
390     if(AD5933_SelectCalResistor(range)!=AD5933_OK)
391     { return AD5933_ERROR;}
392     return AD5933_OK;
393 }
394
395 // Fontions de mesure
396 AD5933_StatusTypeDef AD5933_GetSweepStatus(AD5933_HandleTypeDef* device, uint8_t* pStatus)
397 {
398     if(AD5933_I2C_ReadB(device,STATUS_RADD,pStatus)!=AD5933_OK)
399     { return AD5933_I2C_FAILURE;}
400
401     return AD5933_OK;
402 }
403 AD5933_StatusTypeDef AD5933_GetImpedanceValues(AD5933_HandleTypeDef* device, COMPLEX* z)
404 {
405     uint8_t regValues[4];
406
407     // if(AD5933_I2C_ReadN(device,RE_DATA_RADD,4,regValues)!=AD5933_OK) // Fonction erronée
408     // { return AD5933_I2C_FAILURE;}
409
410     if(AD5933_I2C_ReadB(device,RE_DATA_RADD,&regValues[0])!=AD5933_OK)
411     { return AD5933_I2C_FAILURE;}
412     if(AD5933_I2C_ReadB(device,RE_DATA_RADD+1,&regValues[1])!=AD5933_OK)
413     { return AD5933_I2C_FAILURE;}
414     if(AD5933_I2C_ReadB(device,IM_DATA_RADD,&regValues[2])!=AD5933_OK)
415     { return AD5933_I2C_FAILURE;}
416     if(AD5933_I2C_ReadB(device,IM_DATA_RADD+1,&regValues[3])!=AD5933_OK)
417     { return AD5933_I2C_FAILURE;}
418
419     z->real      = (int16_t)((uint16_t)(regValues[0])<<8)+(uint16_t)(regValues[1]);
420     z->imaginary = (int16_t)((uint16_t)(regValues[2])<<8)+(uint16_t)(regValues[3]);
421
422     return AD5933_OK;
423 }
424
425 AD5933_StatusTypeDef AD5933_PerformSweep(AD5933_HandleTypeDef* device,IMPEDANCE* measures, uint8_t
output)
426 {
427     AD5933_StatusTypeDef ret;
428     uint16_t i=0;
429     uint8_t n;
430
431     uint8_t state = SWP_INIT;
432     COMPLEX temp,cal;
433
434     uint32_t gainMag;
435     int16_t phase,osPhase;
436
437     while(state!=SWP_END)
438     {
439         switch(state)
440         {
441             case SWP_INIT:
442             {
443                 AD5933_SelectRange(RNG_0);
444                 AD5933_SelectOutput(output);
445                 // Mode Initialise With Start Frequency
446                 ret = AD5933_ConfigMode(device,CM_INIT_WITH_SF);
447                 if(ret!=AD5933_OK)return ret;
448
449                 // Wait
450                 HAL_Delay(1); // Valeur arbitraire a revoir
451
452                 // Debut du balayage

```

```

453
454     ret = AD5933_ConfigMode(device, CM_START_SWP);
455     if (ret != AD5933_OK) return ret;
456
457     state = SWP_GET_VAL;
458
459     break;
460 }
461
462 case SWP_GET_VAL:
463 {
464
465     do
466     {
467         ret = AD5933_GetSweepStatus(device, &device->devStatus);
468         if (ret != AD5933_OK) return ret;
469         while ((device->devStatus & IMP_VAL_OK) == 0);
470
471         // Read measurements
472         ret = AD5933_GetImpedanceValues(device, &temp);
473         if (ret != AD5933_OK) return ret;
474
475         if (AD5933_CheckRange(getModule(temp)) != 0)
476         {
477             ret = AD5933_ConfigMode(device, CM_RPT_FREQ);
478             if (ret != AD5933_OK) return ret;
479             state = SWP_GET_VAL;
480             break;
481         }
482         else
483         {
484             state = SWP_GET_IMP;
485             break;
486         }
487     }
488 case SWP_GET_IMP:
489 {
490     AD5933_SelectOutput(OUT_ZCAL);
491     ret = AD5933_ConfigMode(device, CM_RPT_FREQ);
492     if (ret != AD5933_OK) return ret;
493
494     do
495     {
496         ret = AD5933_GetSweepStatus(device, &device->devStatus);
497         if (ret != AD5933_OK) return ret;
498         while ((device->devStatus & IMP_VAL_OK) == 0);
499
500         ret = AD5933_GetImpedanceValues(device, &cal);
501         if (ret != AD5933_OK) return ret;
502
503         gainMag = rCalVal[range]*getModule(cal);
504         osPhase = getArgument(cal);
505
506         phase = (-getArgument(temp)+osPhase);
507
508         measures[i].module=gainMag/getModule(temp);
509         measures[i].phase= phase;
510         n = sprintf((char*)msg3, "%d; %d; %d\n\r", range, measures[i].module, measures[i].phase);
511         HAL_UART_Transmit(huart, msg3, n, UART_TIME_OUT);
512         AD5933_SelectOutput(output);
513         if (((device->devStatus) & END_SWEEP_OK) == 0x00 && NB_MEAS > 1)
514         {
515             ret = AD5933_ConfigMode(device, CM_INC_FREQ);
516             if (ret != AD5933_OK) return ret;
517             i++;
518             state = SWP_GET_VAL;
519             break;
520         }
521         else
522         {
523             state = SWP_END;
524             break;
525         }
526     }
527 }
528 }
529

```

```

530 // > Mode StandBy
531 ret = AD5933_ConfigMode(device, CM_STANDBY);
532
533 return ret;
534 }
535
536
537
538 uint8_t AD5933_CheckRange(uint32_t measurement)
539 {
540     if ((measurement < RNG_LIMIT_L) && (range != NB_RNG-1))
541     {
542         AD5933_SelectRange(++range);
543         return 1;
544     }
545     else
546     {
547         if ((measurement > RNG_LIMIT_H) && (range != 0))
548         {
549             AD5933_SelectRange(--range);
550             return 1;
551         }
552         else
553         {
554             return 0;
555         }
556     }
557 }
558
559
560 // Autres fonctions
561 void ToBytes16(uint16_t value, uint8_t* buffer)
562 {
563     buffer[0] = (uint8_t) (value >> 8);
564     buffer[1] = (uint8_t) (value & 0x00FF);
565 }
566 void ToBytes27(uint32_t value, uint8_t* buffer)
567 {
568     buffer[0] = (uint8_t) ((value & 0x00FF0000) >> 16);
569     buffer[1] = (uint8_t) ((value & 0x0000FF00) >> 8);
570     buffer[2] = (uint8_t) (value & 0x000000FF);
571 }
572
573 void ToString16(uint16_t value, uint8_t* string)
574 {
575     uint16_t i;
576     uint16_t dec = 1;
577     uint16_t temp = value;
578
579     for (i = 0; i < 5; i++)
580     {
581         temp /= dec * 10;
582         temp *= dec * 10;
583         string[4-i] = (uint8_t) ((value - temp) / dec + '0');
584         dec *= 10;
585     }
586 }
587
588 uint32_t getModule(COMPLEX z)
589 {
590     double a = (double) (z.real);
591     double b = (double) (z.imaginary);
592     return (int32_t) (sqrt(a*a+b*b));
593 }
594
595 int32_t getArgument(COMPLEX z)
596 {
597     return (int32_t) (18000*atan2((double) z.real, (double) z.imaginary)/314);
598 }
599
600

```

Schéma de la carte électronique



Annexe G

Suivi des moyennes des paramètres du modèle de Cole pendant la cicatrisation de plaies ischémiques pour les souris à glycémie normale. Les barres d'erreur correspondent à l'écart type.

Paramètres R_0 et R_∞

La Figure 17 présente le suivi des moyennes des résistances basses fréquences R_0 et hautes fréquences R_∞ du modèle de Cole extraites des fits des loci d'impédance.

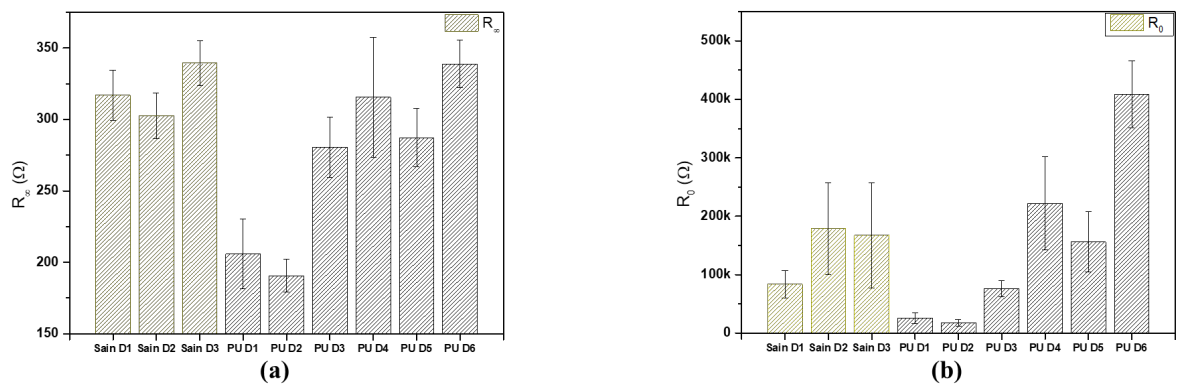


Figure 17 : (a) Suivi de la moyenne du paramètre R_∞ pour des souris normoglycémiques (b) Suivi de la moyenne du paramètre R_0 pour des souris normoglycémiques

La Figure 18 présente le suivi des moyennes des paramètres C et α du modèle de Cole extraites des fits des loci d'impédance.

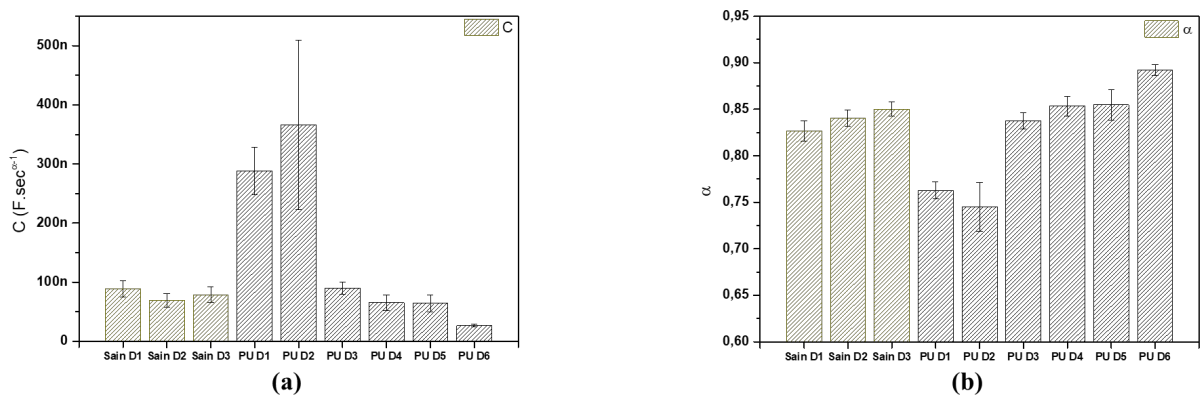


Figure 18 : (a) Suivi de la moyenne du paramètre C pour des souris normoglycémiques (b) Suivi de la moyenne du paramètre α pour des souris normoglycémiques

Les figures qui suivent présentent les suivis photographiques des ulcères de pression au cours de leur cicatrisation pour les souris à glycémie normale.

Souris 4

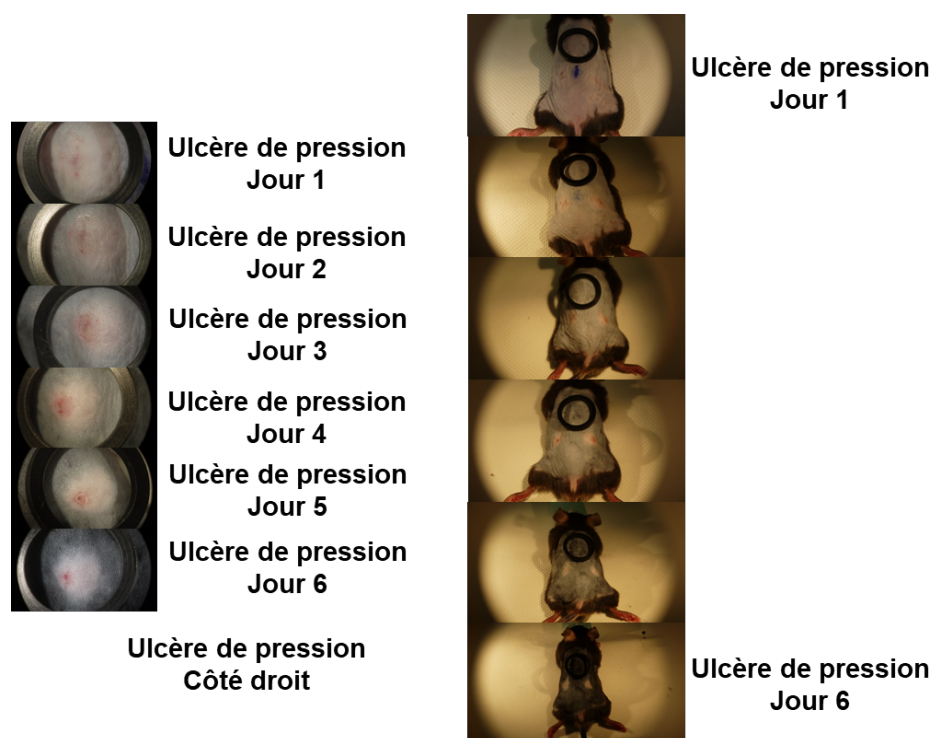


Figure 19 : Suivi photographique de la Souris 4 à glycémie normale : à gauche, escarre droite et à droite, photographies du dos de l'animal

Souris 6

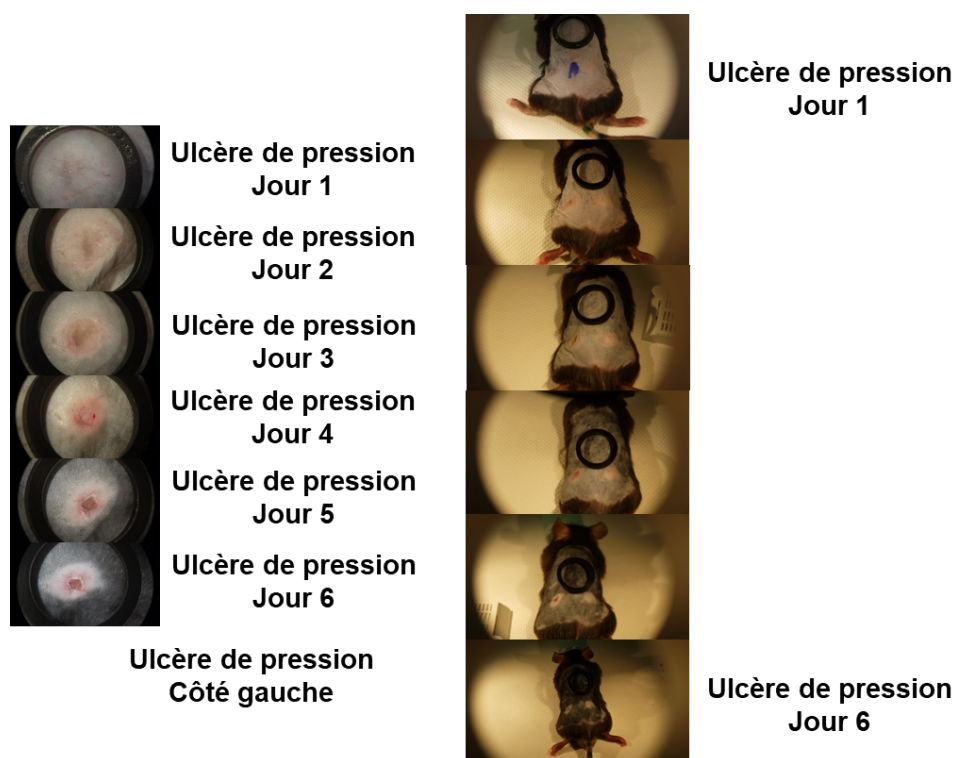


Figure 20 : Suivi photographique de la Souris 6 à glycémie normale : à gauche, escarre gauche et à droite, photographies du dos de l'animal

Souris 7

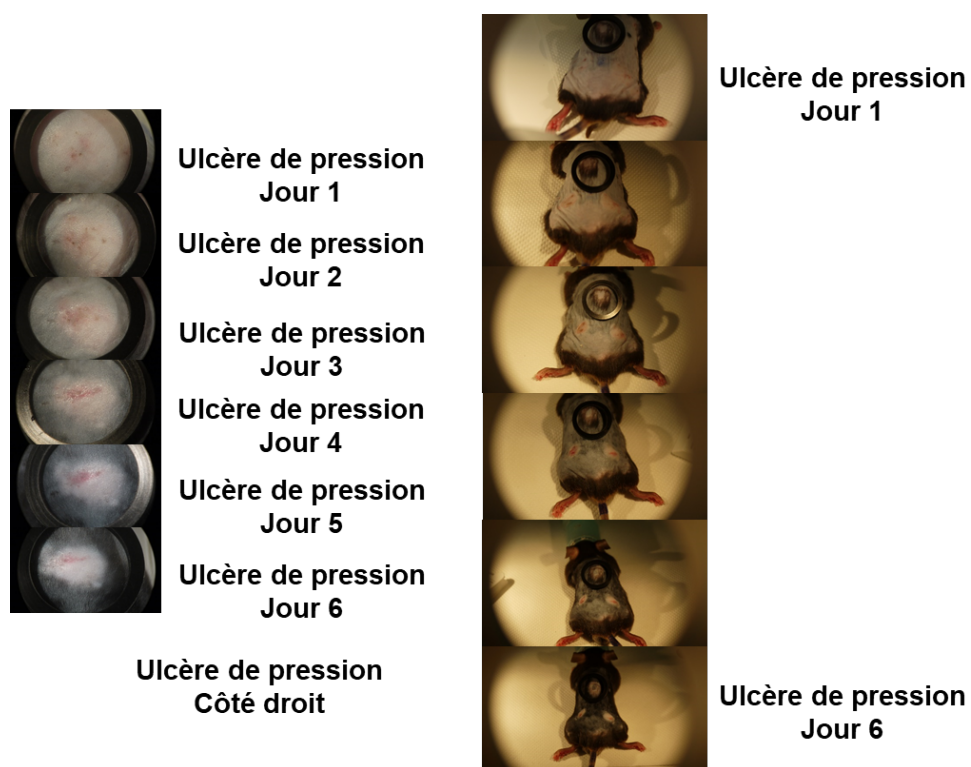


Figure 21 : Suivi photographique de la Souris 7 à glycémie normale : à gauche, escarre droite et à droite, photographies du dos de l'animal

Souris 1

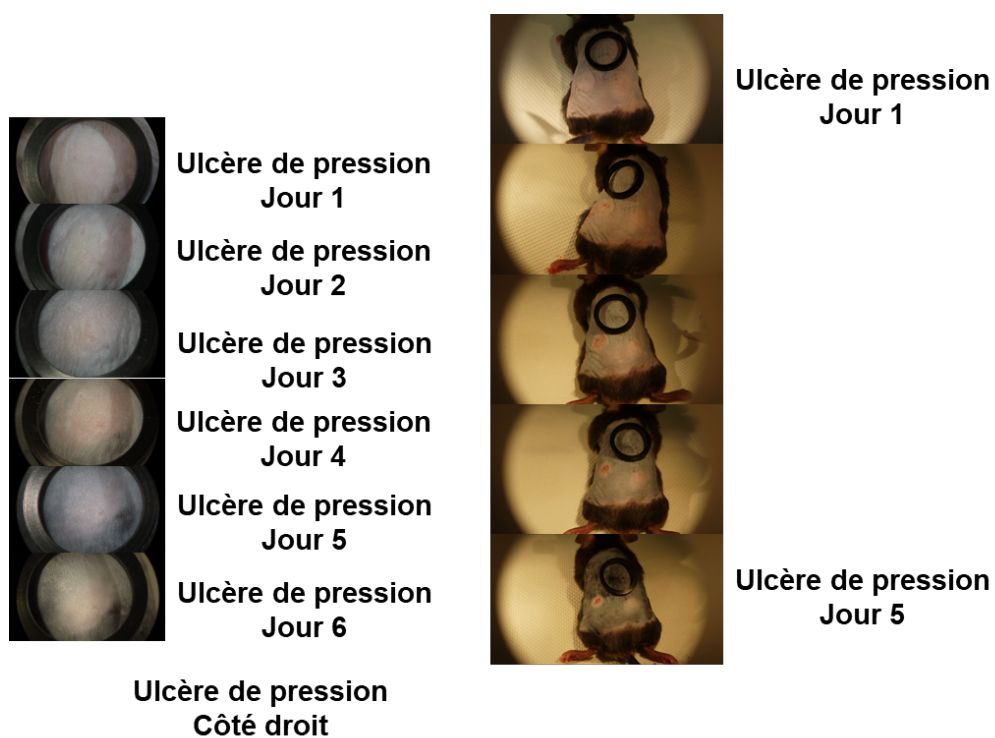


Figure 22 : Suivi photographique de la Souris 1 à glycémie normale : à gauche, escarre droite et à droite, photographies du dos de l'animal

Souris 8

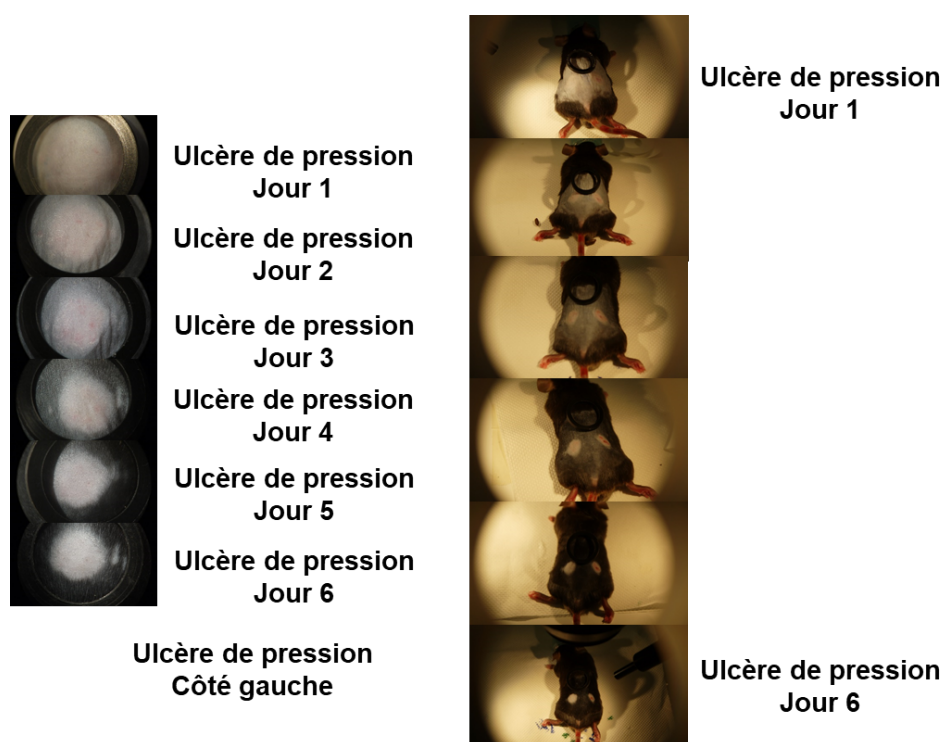


Figure 23 : Suivi photographique de la Souris 8 à glycémie normale : à gauche, escarre gauche et à droite, photographies du dos de l'animal

Souris 12

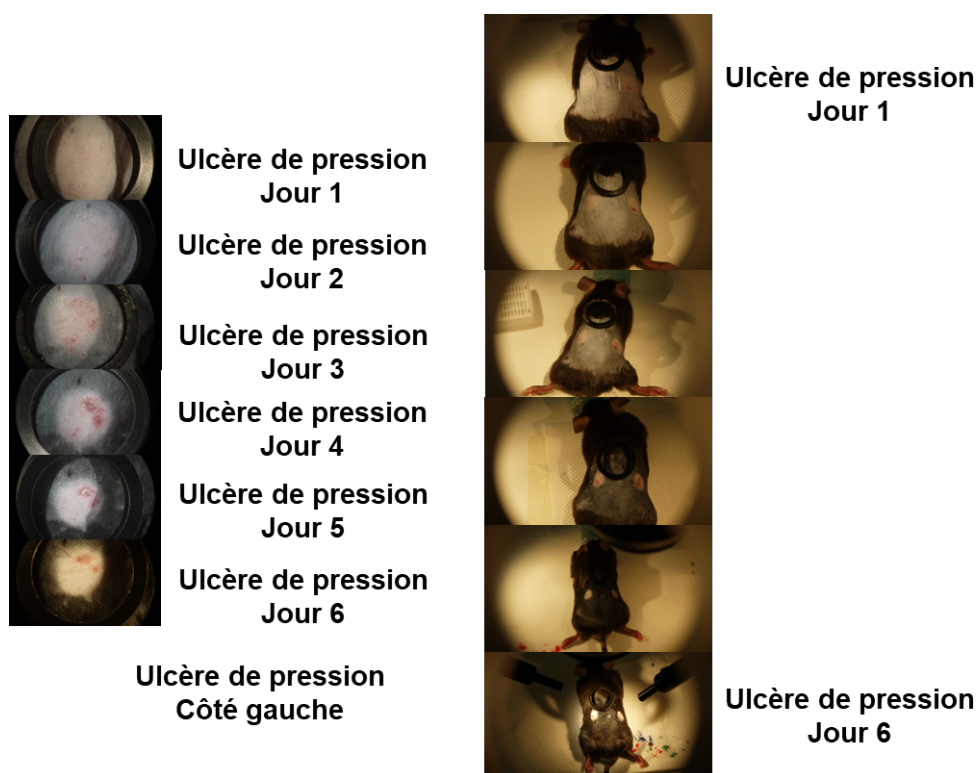


Figure 24 : Suivi photographique de la Souris 12 à glycémie normale : à gauche, escarre gauche et à droite, photographies du dos de l'animal

NNT : **2021LYSEM027**

Maxime-Jean CHAUDON

**Study and development of preventive and curative methods against
pressure sores: detection by sensor network on textile and treatment by
electrostimulation patch and iontophoresis**

Speciality: Microelectronics

Keywords: Pressure ulcer, pressure sensor, microelectronics, flexible electronics, impedance spectroscopy, murine tissue, wound healing monitoring, iontophoresis, vasodilator

Abstract:

A chronic wound is a wound that has not healed in a timely manner and in an orderly manner to reproduce functional and anatomical integrity. Pressure ulcer is a special case of chronic wound caused mainly by the presence of continuous pressure greater than capillary pressure. In this framework, this thesis work addresses the prevention, detection and treatment of pressure ulcers. The first part focuses on the development of a flexible and conformable matrix of piezoresistive pressure sensors and its associated electronics. Such devices serve as a prevention tool as hospital staff can be alerted in case of prolonged exposure to pressure that could lead to the development of a pressure sore in bedridden patients. A second part concerns the detection of pressure ulcers and the monitoring of their evolution by bio-impedance spectroscopy. A first electrical model based on the combination of several Cole systems was studied, based on *in vitro* results on excised pig ear skin. *In vivo* experiments on mice were subsequently carried out. Analysis of the physical parameters of Cole's model showed that this non-invasive method is particularly promising for monitoring cicatrization for the good resolution and robustness it provides. The last part focuses on the use of iontophoresis for therapeutic purposes for the treatment of pressure ulcers using a vasodilator. Preliminary *in vitro* and *in vivo* studies have shown the influence of different parameters on the efficiency of the transdermal delivery of tolazoline and treprostinil molecules, respectively.

NNT : **2021LYSEM027**

Maxime-Jean CHAUDON

**Étude et développement de méthodes préventives et curatives contre les
escarres : détection par réseau de capteur sur textile et traitement par
patch d'électrostimulation et iontophorèse**

Spécialité : Microélectronique

Mots clefs : Lésions de pression, capteur de pression, microélectronique, électronique flexible, spectroscopie d'impédance, tissu murin, suivi de cicatrisation, iontophorèse, vasodilatateur

Résumé :

Une plaie chronique désigne une plaie n'ayant pas cicatrisé en temps voulu pour reproduire une intégrité fonctionnelle et anatomique. L'escarre est un cas particulier de plaie chronique causée principalement par la présence d'une pression continue supérieure à la pression capillaire. Ces travaux de thèse s'inscrivent dans ce contexte en s'articulant autour de la prévention, de la détection et du traitement des escarres. Une première partie concerne le développement d'une matrice flexible et conformable de capteurs de pression piezorésistifs et de son électronique associée. Le but d'un tel dispositif est d'alerter le personnel hospitalier en cas d'exposition prolongée à une pression pouvant entraîner le développement d'une escarre chez un patient alité. Une deuxième partie concerne la détection d'escarres et le suivi de leur évolution par spectroscopie d'impédance. Un premier modèle électrique basé sur l'association de plusieurs systèmes Cole a été étudié, basé sur les résultats *in vitro* sur peau d'oreille de cochon excisée. Des expérimentations *in vivo* sur souris ont également été effectuées. L'analyse des paramètres physiques du modèle de Cole ont montré que cette méthode, non invasive, est particulièrement prometteuse en matière de résolution et de robustesse de suivi de cicatrisation. Enfin, une dernière partie traite de la mise en place d'une iontophorèse à visée thérapeutique pour le traitement de l'escarre à l'aide de vasodilatateurs. Des études préliminaires, *in vitro* et *in vivo*, ont permis de mettre en évidence l'influence de différents paramètres sur l'efficacité du passage transdermique des molécules de tolazoline et tréprostinil, respectivement.