

N° d'ordre 311-2009

Année 2009

THESE DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1

ÉCOLE DOCTORALE

MÉCANIQUE, ENERGÉTIQUE, GÉNIE CIVIL & ACOUSTIQUE

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

soutenue publiquement le 07 décembre 2009

par

Mlle SALETES Izella

TITRE :

CAVITATION PAR EXCITATION ACOUSTIQUE
BIFRÉQUENTIELLE :
APPLICATION À LA THROMBOLYSE ULTRASONORE

Directeur de these : M Jean-Christophe BERA

Co-directeur de thèse : M Bruno GILLES

JURY

M Jean-Christophe Bera	Professeur Lyon	<i>directeur de thèse</i>
M Philippe Blanc-Benon	Directeur de recherche Lyon	<i>président</i>
M Olivier Bou Matar	Professeur Lille	<i>rapporteur</i>
M Bruno Gilles	Maître de conférence Lyon	<i>co-directeur de thèse</i>
M Serge Mensah	Maître de conférence Marseille	<i>examineur</i>
M Mickael Tanter	Directeur de recherche Paris	<i>rapporteur</i>

*A mon frère Florent,
qui me manque énormément.*

A mon frère Josselin.

A mes parents.

A Alain.

Remerciements

Ma première pensée va bien évidemment à mes directeurs de thèse, Jean-Christophe Bera et Bruno Gilles. Ils m'ont d'abord accueillie en stage de Master 2 et m'ont fait confiance, pour continuer encore trois ans sur ce sujet. Cette confiance m'a permis de mener mes travaux dans la direction que je souhaitais, en étant réellement soutenue, voire remotivée quand j'avais l'impression que tout s'écroulait. Leurs deux personnalités différentes mais complémentaires m'ont permis d'appréhender concrètement les domaines de la recherche et de l'enseignement, sous toutes leurs facettes, bonnes et mauvaises, mais avec toujours la même passion. Je ne les remercierais jamais assez pour tout ce qu'ils m'ont apporté, tant du point de vue professionnel que personnel.

Je tiens à remercier Olivier Bou Matar et Mickael Tanter d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse, ainsi que Serge Mensah et Philippe Blanc-Benon d'avoir accepté de faire partie du jury.

Un grand merci à Claude Inserra, pour ses conseils en fin de thèse, son recul et son regard neuf sur mon travail (et mon beamer...).

Cette thèse s'est déroulée au sein de l'unité 556 de l'INSERM à Lyon. Je remercie toutes les personnes y travaillant, qui m'ont aidée de près ou de loin lors de ces trois années. Isabelle Besançon, pour avoir toujours réussi à régler tous les problèmes administratifs ; Adrien Mathias, pour les pièces mécaniques nombreuses et variées, ainsi que pour sa bonne (et moins bonne) humeur ; Bernard Lavandier, pour toutes ses blagues, sa bonhomie, ses tomates et son soutien vitaminé, lors de la rédaction du manuscrit ; merci aussi à tous les autres.

Merci bien sûr à l'ensemble du personnel du laboratoire, pour l'ambiance quotidienne, mais aussi plus occasionnelle (Noël et congrès). Je remercie particulièrement les étudiants présents lors de mes deux premières années de thèse, pour m'avoir accueillie et acceptée dans leur groupe déjà formé ; et pour tous ces bons moments passés ensemble, au sein et à l'extérieur du laboratoire (mais tout ce qui se passe en dehors du labo reste en dehors du labo...). Merci donc à Adriana, Apoutou, Cédric (chef éternel et vénéré), Guillaume, Jhony (co-bureau inoubliable),

Lorena et Mihaela. Merci également aux *nouveaux* étudiants et particulièrement Vincent. Je tiens aussi à remercier Anoop (petit garçon), stagiaire de M1 lors de ma première année, pour avoir effectué les premières expériences dans le sang, ce qui m'a permis d'identifier tous les problèmes liés à cette nouvelle discipline, mais aussi et surtout pour sa bonne humeur et son entrain constants, malgré lesdits problèmes.

Et bien évidemment, merci à mes parents, Monique et Patrick, et à mon frère Josselin pour leurs encouragements, leur soutien et ce grand intérêt porté à mon travail. Merci également à ma famille, à la famille d'Alain, et à mes amis pour m'avoir toujours soutenue, tout en se demandant quand j'arrêterais mes études. Enfin, merci à Alain, pour m'avoir encouragée, soutenue et supportée, rien ne pourra jamais égaler ce que tu as fait et ce que tu fais encore chaque jour pour moi.

RESUME en francais

Dans nombre d'applications thérapeutiques des ultrasons, il peut être intéressant d'augmenter l'activité de cavitation inertielle tout en limitant au maximum les intensités utilisées : ceci permet de maximiser les effets mécaniques des ultrasons au niveau des tissus visés tout en minimisant les échauffements des tissus environnants. L'étude expérimentale présentée ici porte sur la modification des seuils de cavitation inertielle et de l'activité de cavitation au-delà du seuil lorsqu'un signal bifréquentiel comportant deux composantes fréquentielles proches est utilisé. Le caractère non linéaire de la modification du seuil est démontré. Ainsi, des réductions significatives de l'intensité nécessaire à l'obtention de cavitation inertielle peuvent être obtenues dans des milieux où les seuils sont élevés. De plus, l'évolution de l'activité de cavitation lorsque l'intensité ultrasonore est augmentée au-delà du seuil montre qu'avec une excitation bifréquentielle, de fortes activités de cavitation peuvent être atteintes pour des intensités plus proches du seuil. Ce point présente un double intérêt sur le plan de l'application pratique, puisque cela signifie une meilleure séparation des régimes cavitant et non cavitant et permet de réduire encore, par rapport à une excitation monofréquentielle, les intensités requises pour atteindre une activité de cavitation donnée. Des essais sur modèle de caillots sanguins ont permis de valider in vitro l'efficacité de cette excitation bifréquentielle pour la thrombolyse purement ultrasonore.

TITRE en anglais

CAVITATION USING BIFREQUENCY ACOUSTIC EXCITATION :
APPLICATION TO ULTRASOUND THROMBOLYSIS

RESUME en anglais

Enhancing cavitation activity using lower acoustic intensities is interesting to a variety of therapeutic applications, where the mechanical effects of cavitation are required with minimal heating of surrounding tissues. The present experimental work is focused on the modification of the inertial cavitation threshold and on the cavitation activity beyond the threshold where an excitation signal made of two neighbouring frequency components is used. A significant reduction of the acoustic intensity required to trigger cavitation can be obtained in a medium with a strong cavitation threshold. Moreover, comparing the evolution of the cavitation activity beyond the threshold where mono- and bi-frequency excitations are used, it is shown, in the latter case, that strong activities can be reached with intensities closer to the threshold value. This fact would offer a dual-benefit in terms of therapeutic applications, as it enables a better separation between the cavitating and non-cavitating regime and allows lower intensities to be used to attain a given cavitation activity. The evolution of the bifrequency threshold as function of the external parameters shows that the mechanisms involved are nonlinear. Experiments on in vitro blood clot models have validated the efficiency of this bifrequency excitation for purely ultrasound thrombolysis.

DISCIPLINE

Acoustique

MOTS-CLES

Acoustique, Cavitation, Ultrasons, Thrombolyse, Seuil de cavitation, Non-linéarité, Collapse, Multifréquence

Acoustics, Cavitation, Ultrasound, Thrombolysis, Cavitation Threshold, Non-linearity, Collapse, Multifrequency

LABORATOIRE

Inserm UMR_S 556, 151 cours Albert Thomas, 69424 Lyon Cedex 03

Table des matières

Remerciements	5
Introduction	13
1 Contexte Scientifique	17
1.1 Les ultrasons thérapeutiques	18
1.1.1 Introduction	18
1.1.2 Effets thermiques	19
1.1.3 Effets mécaniques	22
1.1.4 La cavitation ultrasonore	24
1.1.4.1 La cavitation	24
1.1.4.2 La cavitation Acoustique	24
1.1.4.3 La nucléation	25
1.1.4.4 Dynamique d'une bulle	25
1.1.4.5 Seuil de cavitation et fréquence	28
1.1.4.6 Caractère aléatoire de la cavitation	29
1.1.4.7 La cavitation acoustique en thérapie ultrasonore	30
1.2 Les excitations multifréquentielles	30
1.3 La thrombolyse	31
1.3.1 La thrombose vasculaire	31
1.3.2 Les techniques de traitement des thromboses	33
1.3.2.1 Les techniques chirurgicales	33

1.3.2.2	Les agents thrombolytiques	34
1.3.2.3	Les méthodes pharmaco-mécaniques	35
1.3.3	La thrombolyse ultrasonore	36
1.4	Conclusion	37
2	Dispositif d'étude de la cavitation	39
2.1	Dispositif expérimental	40
2.1.1	La cuve	40
2.1.2	Caractéristiques de l'eau	41
2.1.3	Les transducteurs	42
2.1.4	Les cibles de cavitation	44
2.1.5	L'hydrophone	47
2.1.6	L'absorbant acoustique	47
2.2	Les signaux d'excitation	48
2.2.1	L'excitation monofréquentielle	48
2.2.2	L'excitation bifréquentielle	49
2.3	La chaîne électronique	52
2.4	Les mesures et traitements des données	54
2.4.1	Principe général	55
2.4.2	Détermination d'un indice de cavitation	57
2.4.2.1	Le traitement des données	57
2.4.2.2	Détermination de la puissance	58
2.4.3	Seuil et activité de cavitation inertielle	61
2.4.3.1	Reproductibilité des résultats	62
2.4.3.2	Les seuils de cavitation I_{Smono} et I_{Sbi}	65
2.4.3.3	Indicateurs de forte activité de cavitation	67
3	Effet d'une excitation bifréquentielle	69
3.1	Introduction	70
3.2	Évolution du seuil de cavitation avec le taux de gaz dissout	71
3.3	Aspect non linéaire	72

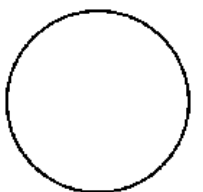
3.4	Activité de cavitation au-delà du seuil	75
3.5	Zone potentielle de cavitation	79
3.6	Influence de l'écart en fréquence Δf	82
3.7	Bilan des essais sur cible	85
4	Sonolyse de caillots sanguins in vitro	87
4.1	Adaptation du dispositif expérimental	88
4.1.1	Le dispositif de maintien du caillot	89
4.1.2	Les cuves	89
4.1.3	La solution <i>anti-cavitante</i>	90
4.1.4	Les paramètres de tirs	91
4.2	Le modèle de caillot sanguin in vitro	91
4.2.1	Préparation des différentes solutions	92
4.2.1.1	Solution mère d'albumine (SAB)	92
4.2.1.2	Solution mère de thrombine	92
4.2.1.3	Solution mère de $CaCl_2$	92
4.2.2	Coagulation du sang total	93
4.2.3	Préparation des échantillons pour insonification	93
4.2.4	Pesée des filtres, des caillots et des résidus	94
4.2.5	Détermination de l'efficacité du tir	96
4.2.6	Déroulement des mesures	96
4.3	Résultats de sonolyse de caillots	97
4.3.1	Liquide d'immersion : sérum physiologique	97
4.3.2	Liquide d'immersion : plasma sanguin	98
4.4	Discussion	98
4.5	Conclusion	102
	Conclusion	103
	Bibliographie	105

Introduction

Surtout connus pour leur utilisation en imagerie, les ultrasons offrent également de nombreuses applications en thérapie. Certaines d'entre elles sont déjà au stade de l'utilisation clinique. La plus connue, mise en oeuvre communément depuis les années 1980 pour le traitement des calculs rénaux est la lithotritie par ondes de choc. Plus récemment, les ultrasons focalisés de hautes intensités (HIFU) ont commencé à offrir des perspectives intéressantes pour le traitement de certaines tumeurs cancéreuses de la prostate, des os, du foie ou du rein. Les méthodes employées, encore limitées à des situations précises, font l'objet de nombreuses recherches en vue de leur amélioration et de l'élargissement de leurs champs d'applications, comme l'administration de substances médicamenteuses, la thrombolyse ou le traitement du glaucome. Les ultrasons focalisés de hautes intensités ont le principal avantage de traiter de manière externe des organes situés en profondeur sans altérer les tissus situés entre le transducteur et sa tache focale.

Les travaux récents sur l'amélioration et le développement de la thérapie ultrasonore font état de l'importance des phénomènes de cavitation dans la destruction tissulaire, tant sur le plan des effets thermiques que mécaniques. En effet, l'oscillation des bulles générées au sein des tissus augmente l'absorption par le milieu et donc l'échauffement des tissus, permettant ainsi de favoriser le développement des lésions thermiques. Mais ces mêmes bulles modifient la propagation ultrasonore, rendant difficile la prédiction de la taille des lésions. L'implosion des bulles lors du régime inertiel est un autre mode d'action important, notamment dans les applications dédiées à la délivrance de médicaments ou l'internalisation de gènes dans les cellules, dans la désagrégation des calculs rénaux ou dans la thrombolyse ultrasonore. Le contrôle de la cavitation est donc envisagé en thérapie pour repousser les limites actuelles de la destruction ultrasonore, à travers la conception de techniques mieux ciblées, l'objectif étant d'augmenter le bénéfice thérapeutique tout en diminuant les dommages collatéraux.

Par exemple, dans le cas de la thrombolyse, des études ont montré que les ultrasons pouvaient constituer une alternative intéressante aux techniques pharmacologiques actuelles : soit en complément de ces mêmes agents pharmacologiques pour augmenter leur efficacité, soit en utilisant l'implosion des bulles de cavitation au voisinage du caillot. Cette dernière méthode est séduisante car elle permet d'éviter tout recours aux agents pharmacologiques, qui posent encore des problèmes de complications hémorragiques. Cependant, les fréquences permettant une bonne



focalisation, et donc une bonne sélectivité du traitement, nécessitent de fortes puissances pour initier la cavitation inertielle, ce qui augmente les risques de lésions thermiques ; a contrario, les basses fréquences favorisent l'apparition de cavitation à faible puissance mais présentent des propriétés de focalisation médiocres. Cette méthode se voit donc cantonnée à un compromis entre sélectivité spatiale et diminution du risque de lésions thermiques, ce qui limite largement son intérêt.

L'objectif des travaux présentés ici est de combiner les bonnes propriétés de focalisation d'un faisceau haute-fréquence à la bonne efficacité vis-à-vis de la cavitation d'une onde basse fréquence. La combinaison non linéaire de deux hautes fréquences proches, en géométrie focalisée, permet de produire une composante basse-fréquence à la fréquence différence des fréquences primaires, localisée au voisinage de la zone focale.

De nombreux travaux ont été menés sur la stimulation d'une activité de cavitation par une excitation multifréquentielle. Les études réalisées jusqu'à présent superposent généralement au signal sinusoïdal haute-fréquence habituel une basse fréquence générée indépendamment. La spécificité du présent travail réside dans le fait de n'émettre que des composantes haute-fréquence de fréquences proches et de localiser la composante basse-fréquence au voisinage de la région ciblée. Mais ceci se fait au prix d'une basse fréquence issue d'un processus non linéaire a priori peu efficace. Il s'agit donc ici, dans la perspective d'une application à la thrombolyse ultrasonore, d'évaluer l'intérêt et de quantifier les effets d'une telle excitation sur le seuil l'activité de cavitation inertielle.

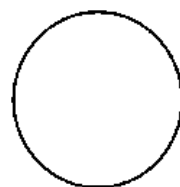
Le premier chapitre de la thèse décrit le contexte scientifique de l'étude. Après avoir présenté les différents aspects des ultrasons thérapeutiques (effets thermiques, effets mécaniques et cavitation ultrasonore) nous examinerons les différents phénomènes susceptibles d'être mis en jeu lors de la thérapie par ultrasons et l'interaction entre ces phénomènes. La section suivante, consacrée aux champs multifréquentiels, fera un état de l'art des différentes études menées dans ce domaine. Enfin, la dernière partie présentera la thrombose vasculaire ainsi que les différentes méthodes permettant actuellement de la traiter.

Le second chapitre présente le dispositif mis en place pour étudier la cavitation ultrasonore générée par un signal bifréquentiel sur une cible de rugosité contrôlée. Après avoir décrit le dispositif expérimental ainsi que tous les éléments le constituant, les signaux ultrasonores étudiés (mono- et bi-fréquentiel) seront présentés. Enfin, les différentes méthodes d'évaluation et de caractérisation de l'activité de cavitation inertielle seront introduits.

Le troisième chapitre fait état des résultats de l'effet d'une excitation bifréquentielle sur la cavitation hétérogène. Premièrement, l'influence du taux de gaz dissout dans l'eau sur les seuils de cavitation sera présentée pour ensuite démontrer le caractère non linéaire de la modification des seuils de cavitation grâce à l'excitation bifréquentielle. Nous nous intéresserons ensuite à l'évolution de l'activité de cavitation au-delà du seuil. Des mesures permettant d'évaluer la zone, le long de

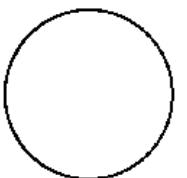
l'axe acoustique, où la cavitation inertielle est susceptible d'apparaître seront présentées. Enfin, la dernière partie portera sur l'influence de la valeur de l'écart entre les deux hautes fréquences primaires du signal bifréquentiel.

Le dernier chapitre présente les premiers résultats de thrombolyse purement ultrasonore obtenus *in vitro*. Après avoir décrit le dispositif expérimental et le modèle de caillots sanguins utilisé, les résultats obtenus dans deux liquides d'immersion différents (sérum physiologique et plasma sanguin) seront exposés et commentés. L'efficacité thrombolytique du signal bifréquentiel sera évaluée en la comparant à celle obtenue avec un signal monofréquentiel dans les mêmes conditions expérimentales.



Chapitre 1

Contexte Scientifique de la Thrombolyse par Cavitation Ultrasonore



1.1 Les ultrasons thérapeutiques

1.1.1 Introduction

La mise en oeuvre des ultrasons remonte à la conception des sources ultrasonores. En 1880, Pierre et Jacques Curie découvrent l'effet piézoélectrique direct [1] : un échantillon de quartz convenablement orienté, soumis à une pression mécanique crée une polarisation électrique. L'année suivante, après que Lippman le prédise, les frères Curie mettent en évidence l'effet inverse : un cristal de quartz soumis à un champ électrique se comprime ou se dilate.

Contrairement aux idées reçues et au fort développement actuel des méthodes d'imageries ultrasonores par échographie, l'utilisation des ultrasons en médecine a débuté avec les applications thérapeutiques plutôt que diagnostiques. En 1922, c'est au cours de ses travaux sur le développement du sonar que Paul Langevin met en évidence les propriétés destructrices des ultrasons lorsqu'il constate que des bancs de poissons morts remontent à la surface après avoir été exposés au faisceau d'un sonar. En 1926 et 1927, Woods et Loomis [2, 3] étudient l'effet léthal des ultrasons sur les cellules, tissus, poissons et grenouilles. En 1933, Freundlich propose un usage thérapeutique des ultrasons en physiothérapie : il utilise les ultrasons pour chauffer les tissus au niveau des articulations et des muscles pour des traitements antalgiques et anti-inflammatoires (hyperthermie thérapeutique). Dans les années 40-50, apparaissent les premières utilisations de transducteurs focalisés avec les travaux de Lynn *et al.* [4] et Fry *et al.* [5] ; c'est le début de la thérapie par ultrasons focalisés de hautes intensités (*High Intensity Focused Ultrasound : HIFU*).

Pour mettre en oeuvre de façon fiable une chirurgie ultrasonore par hyperthermie (destruction des tissus par la chaleur), il faut maintenir une température contrôlée sur une zone tissulaire contrôlée. Or la réponse naturelle de l'organisme pour réduire l'excès de température est d'augmenter la perfusion vasculaire, ce qui engendre des points froids et des zones de surchauffe. Pour s'affranchir de ces problèmes, il faut des temps d'exposition plus courts et donc une énergie plus importante. Dans cette optique, les HIFU visent à échauffer fortement et ponctuellement les tissus en un temps très court.

Cependant, à l'époque des premiers travaux de chirurgie par tirs ultrasonores, les moyens d'évaluation et de contrôle de la technique permettant de localiser avec précision la zone effective de traitement sont limités. Le développement des applications thérapeutiques des ultrasons est laissé en suspens au profit de l'intérêt grandissant que l'échographie suscite auprès des scientifiques. De plus, l'imagerie ultrasonore s'avère un outil diagnostique non invasif très utilisé et bon marché par rapport aux autres techniques d'imagerie telles les rayons X ou plus récemment l'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique).

C'est avec les avancées dans les domaines de l'électronique et de l'informatique que les ultrasons thérapeutiques reviennent au devant de la scène dans les années 1980. En effet, la conception de nouvelles sondes nécessite des études pré-

liminaires de simulation de propagation acoustique, mais aussi la mise en place de logiciels de suivi de tir ultrasonore. Aujourd'hui, les ultrasons couvrent un champ important dans la thérapie. On peut citer par exemple :

- la lithotritie : destruction par onde de choc des calculs rénaux,
- l'hyperthermie : destruction de tissus mous par élévation de température appliqués par exemple au traitement du glaucome, des cancers localisés de la prostate, de la vessie, du foie, du sein, de l'oesophage...
- la transfection : internalisation de matériel génétique à l'intérieur de la cellule vivante,
- délivrance localisée de médicaments (drug delivery) : libération localisée de molécules actives encapsulées.

Toutes ces applications dépendent de différents effets dus à la propagation d'un faisceau ultrasonore. Dans tous les cas, l'effet recherché est une modification du milieu par les ultrasons : l'onde modifie le milieu irradié. Cette modification peut être thermique (chauffage, brûlure...), mécanique (casse, désagrégation, émulsification...) ou chimique (production de radicaux libres...).

Les sections suivantes détailleront les effets thermiques et mécaniques ; le phénomène de cavitation acoustique, qui peut être aussi à l'origine de différents effets thermiques, mécaniques ou chimiques, sera ensuite expliqué.

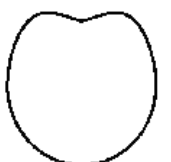
1.1.2 Effets thermiques

Lorsqu'un faisceau ultrasonore traverse un milieu, son intensité diminue avec la distance parcourue, on parle d'*atténuation*. Plusieurs facteurs contribuent à cette atténuation : l'absorption acoustique, la divergence du faisceau ultrasonore, la diffusion due à l'hétérogénéité du milieu de propagation et le transfert de l'onde selon d'autres modes vibratoires que le mode longitudinal de traction-compression. Par définition, l'onde ultrasonore produit un mouvement des particules du milieu traversé, et engendre donc des forces de friction qui sont la cause de l'absorption du faisceau. L'énergie perdue par l'onde acoustique à cause de ces frottements est dégradée localement sous forme de chaleur et contribue donc à l'élévation de température du milieu. En pratique, le transfert vers des modes non propagatifs, notamment de cisaillement, se traduit souvent *in fine* par de l'absorption. Les coefficients d'atténuation et d'absorption sont donc couramment assimilés l'un à l'autre dans les milieux biologiques. Pour une onde plane, l'intensité ultrasonore $I(z)$ à la distance z (en m) est donnée par l'expression :

$$I = I_0 e^{-2\mu z}, \quad (1.1)$$

avec I_0 l'intensité initiale ($z = 0$) et μ le coefficient d'absorption en m^{-1} . La quantité de chaleur apportée par unité de volume Q , exprimée en $\text{W} \cdot \text{m}^{-3}$ est donnée par l'expression suivante :

$$Q = 2\mu I \quad (1.2)$$



Dans la littérature le coefficient d'atténuation est plus généralement exprimé en dB.m^{-1} :

$$\alpha = 20 \mu \log e. \quad (1.3)$$

Pour la plupart des tissus mous, et dans une bande de fréquence limitée, l'atténuation acoustique dépend de la nature du milieu traversé et varie de façon non linéaire avec la fréquence selon :

$$\alpha(f) = a f^b \quad (1.4)$$

où a est l'atténuation à 1 MHz de l'onde ($\text{m}^{-1}.\text{MHz}^{-b}$), f la fréquence (MHz) et b le coefficient de non-linéarité. a et b dépendent des caractéristiques du milieu, quelques valeurs typiques de ces paramètres sont données dans le tableau 1.1.

Milieu	a $\text{dB.cm}^{-1}.\text{MHz}^{-b}$	b
Eau	0,0022	2
Foie [6]	0,45	1,05
Graisse [7]	0,6	0,4
Muscle [8]	0,57	1
Os [9]	22	non renseigné
Poumon [10]	30	non renseigné
Sang [11]	0,16	1,23

TAB. 1.1 – Valeurs des paramètres a et b dans différents milieux biologiques.

L'atténuation dans les tissus tels que les muscles, la graisse ou le foie sont assez faibles et similaires. Par contre, elle est très forte dans les os et encore plus dans les poumons. C'est pourquoi il n'existe pas de traitement thérapeutique, ou même d'imagerie par ultrasons, dans les poumons et qu'il est très difficile d'accéder aux zones se trouvant derrière des *barrières* osseuses. Le milieu biologique ayant le plus faible coefficient d'atténuation, et le plus proche de l'eau, est le sang. De nombreuses études portant sur des thérapies dans le sang, comme la thrombolyse, commencent donc souvent par expérimenter leur dispositif dans de l'eau.

Lorsqu'un faisceau ultrasonore traverse un milieu biologique, l'augmentation locale de la température des tissus résulte d'un équilibre entre le dépôt de chaleur généré par l'atténuation et l'évacuation de cette chaleur par diffusion thermique et par convection via les flux sanguins irriguant les tissus. La quantité de chaleur drainée par diffusion thermique est fonction de la conductivité thermique intrinsèque du milieu. L'équation de transfert de la chaleur dans les milieux biologiques (Bio Heat Transfert Equation : BHTE) énoncée par Pennes en 1948 [12] décrit l'évolution de la température dans les tissus :

$$\rho_m c_m \frac{\partial T}{\partial t} = k \nabla^2 T - \omega_a c_a (T - T_a) + Q, \quad (1.5)$$

où

- T est la température des tissus ($^{\circ}\text{C}$),
- k le coefficient de conductivité thermique des tissus ($\text{W.m}^{-1}.\text{^{\circ}C}^{-1}$),
- ρ_m la densité des tissus (kg.m^{-3}),
- c_m la chaleur spécifique des tissus ($\text{J.kg}^{-1}.\text{^{\circ}C}^{-1}$),
- ω_a le taux de perfusion sanguine ($\text{kg.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$),
- c_a la chaleur spécifique du sang ($\text{J.kg}^{-1}.\text{^{\circ}C}^{-1}$),
- T_a la température du sang.

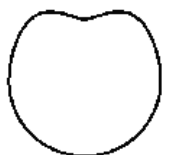
Le terme $\omega_a c_a (T - T_a)$ permet de prendre en compte la chaleur évacuée par convection dans les vaisseaux sanguins. La BHTE permet de donner une bonne approximation de l'évolution de la température locale dans les tissus biologiques.

En 1984, Sapareto et Dewey [13] observent qu'un tissu chauffé à une température de 43°C pendant un temps $t_{43^{\circ}\text{C}}$ subit les mêmes dommages biologiques qu'un tissu chauffé à 44°C pendant un temps deux fois plus court. À mesure que la température d'exposition est augmentée de 1°C , le temps nécessaire pour obtenir le même effet est divisé par 2. Cette observation n'est vraie que pour des températures supérieures ou égales à 43°C . En dessous, le rapport temporel passe à 4. Tout effet biologique obtenu sur des tissus exposés à une température T quelconque pendant un temps Δt quelconque peut être rapporté au temps équivalent $t_{43^{\circ}\text{C}}$ qu'il aurait fallu pour obtenir le même effet à une température $T = 43^{\circ}\text{C}$. On définit donc empiriquement la *dose thermique équivalente* à 43°C , $t_{43^{\circ}\text{C}}$, donnée par la relation suivante :

$$t_{43^{\circ}\text{C}} = \sum_{t=0}^{t_{\text{final}}} R^{43-T} \Delta t, \quad \begin{array}{lll} R = 0 & \forall & T < 37 \\ R = 0,25 & \forall & 37 < T < 43 \\ R = 0,5 & \forall & 43 < T \end{array} \quad (1.6)$$

Pour la plupart des tissus mous, le seuil produisant une nécrose irréversible est de 14400 secondes (4 heures) à 43°C . L'équation (1.6) permet alors de savoir si l'application d'un profil de température suivant une dynamique donnée a produit une nécrose en se référant à ce seuil. Cette relation entre le temps de traitement, la température et les dommages tissulaires donne une bonne approximation des effets thermiques des ultrasons dans les tissus biologiques (figure 1.1).

Sur la figure 1.1, l'aire hachurée correspond à la zone dite d'*hyperthermie*. La technique d'hyperthermie est généralement employée en association avec la radiothérapie. Soumis à ce traitement, les tissus cancéreux sont alors plus sensibles aux rayonnements, ce qui permet une destruction sélective des cellules tumorales. En revanche, une forte perfusion sanguine limite l'intérêt de cette méthode car l'étendue des dommages n'est plus homogène lors des traitements hyperthermiques de longue durée et il apparaît des zones non chauffées. Il est préférable d'envisager des traitements de courte durée d'exposition et à forte température afin de s'affranchir de l'effet de la perfusion sanguine. Il s'agit alors de chirurgie ultrasonore ou d'*ablathermie*. Cette technique est souvent mise en œuvre au moyen de transducteurs focalisés permettant de délivrer des intensités très élevées (plusieurs milliers de W/cm^2) au point focal. Ces systèmes présentent également l'avantage de pouvoir agir à distance (sonde extracorporelle), on évite alors les problèmes que l'on



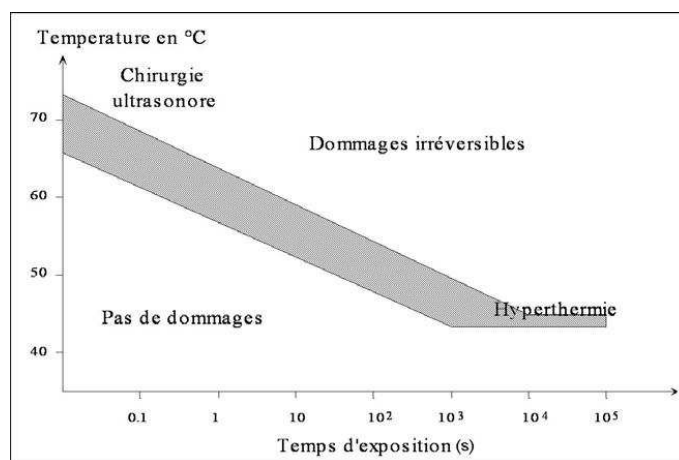


FIG. 1.1 – Niveau de traumatisme des tissus en fonction de la température et du temps d'exposition d'après [14].

peut également rencontrer en chirurgie classique liés à toute intrusion dans le corps humain.

Cependant, il est également possible de couvrir des régions plus larges en utilisant des transducteurs plats, de petites dimensions fonctionnant à des fréquences assez élevées (plusieurs MHz) : les sondes intersticielles. Ces derniers permettent de s'affranchir des problèmes rencontrés avec les transducteurs focalisés (barrières osseuses. . .) mais ramènent les problèmes liés au caractère invasif de tels transducteurs.

1.1.3 Effets mécaniques

Les ultrasons peuvent affecter les suspensions cellulaires, les macromolécules ou d'autres unités biologiques, même lorsque l'élévation de température est négligeable. Une onde ultrasonore est une onde mécanique, qui met donc en jeu des compressions, dilatations, des contraintes qui vont avoir plus ou moins d'effet selon la nature du milieu que l'onde traverse.

Par exemple, en lithotritie, les ondes de chocs, qui sont des variations brutales de la pression dans un temps très court, servent à détruire les calculs rénaux de façon extracorporelle. Cette technique est apparue en 1980 au département d'urologie de la clinique Großhadern à Munich [15]. La forme théorique d'une onde de choc est illustrée sur la figure 1.2. On y distingue l'onde de compression (valeur de la pression maximale positive $P+$), l'onde de détente (valeur de la pression maximale négative $P-$), le temps de montée (T_m) et la durée de l'impulsion (T_{imp}). Selon les générateurs utilisés, la pression maximale en compression peut atteindre 100 MPa, pour un temps de montée de l'ordre de quelques dizaines de nanosecondes. Les tissus biologiques mous ont des propriétés acoustiques très proches

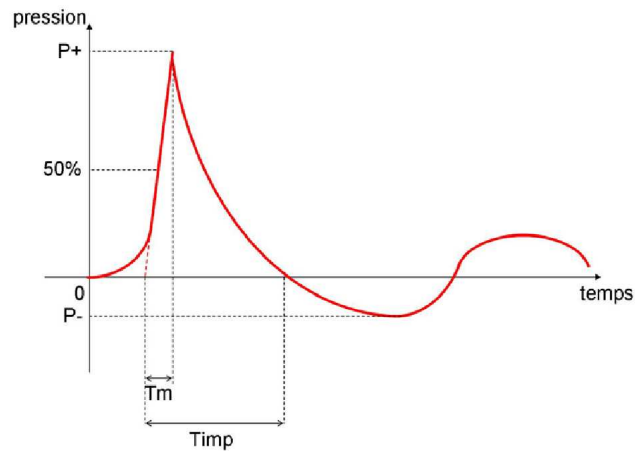
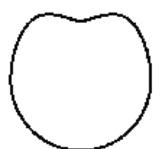


FIG. 1.2 – Allure d'une onde de choc

de celles de l'eau. L'onde de choc peut se propager dans ces milieux sans subir de phénomènes de réflexion ou de réfraction majeurs. Au contraire, l'impédance acoustique des calculs rénaux est de 5 à 10 fois supérieure à celle des tissus biologiques mous ce qui va agir fortement sur la propagation acoustique. On distingue trois effets purements mécaniques sur le calcul [16] : *le coup de marteau*, l'effet de *spallation* et l'effet de *squeezing*. Lorsque l'onde de choc arrive sur la face avant du calcul, la différence d'impédance et la propagation de l'onde génèrent de fortes contraintes mécaniques à l'intérieur du calcul, c'est l'effet *coup de marteau*. L'onde se réfléchit sur la face arrière, et va se propager dans le sens inverse à l'onde de compression, provoquant une forte contrainte sur la face arrière. Le calcul se fracture alors généralement par l'arrière, c'est le phénomène de *spallation*. Par ailleurs, l'onde de choc se propage plus vite dans le calcul que dans les tissus mous l'entourant, il se forme donc une contrainte sur la surface latérale, due au déphasage des deux ondes, qui comprime le calcul de manière quasi-statique. C'est l'effet de *squeezing*, qui tend à fracturer le calcul parallèlement à la direction de propagation.

A côté de ces contraintes liées aux oscillations de pression de l'onde, les ultrasons génèrent sur les tissus qu'ils traversent une force de poussée : c'est le phénomène de *pression de radiation*. On peut comprendre ce phénomène simplement par les transferts de quantité de mouvement de l'onde dans les tissus : ces derniers ne réagissent pas assez vite aux transitions entre phases de pressions positives et négatives ; le mouvement des tissus se trouve alors déphasé par rapport à l'onde acoustique. En moyenne sur plusieurs période, l'énergie transmise aux tissus à cause de ce déphasage se traduit en partie par un transfert d'impulsion dans le sens de propagation de l'onde. Ce transfert génère une force susceptible de provoquer le



déplacement des tissus. Dans un champ non uniforme, la pression de radiation crée des gradients de pression qui peuvent provoquer l'apparition de courants en milieu fluide. Ces courants peuvent se produire à l'échelle du centimètre ou du micron (microcourant).

1.1.4 La cavitation ultrasonore

1.1.4.1 La cavitation

D'un point de vue strictement physique, pour un liquide pur (sans impureté, sans gaz dissout) la cavitation se rapproche thermodynamiquement de l'ébullition puisqu'il s'agit dans les deux cas d'une transition de phase liquide/vapeur. Pour les deux phénomènes il y a création de bulles de vapeur au sein d'un liquide, et création d'un mélange diphasique vapeur/liquide. On distingue ces deux phénomènes comme suit :

Cavitation : processus de nucléation de bulles de vapeur dans un liquide dû à un abaissement de la pression à température constante,

Ebullition : processus de nucléation de bulles de vapeur dans un liquide dû à une hausse de température à pression constante.

La cavitation décrit la naissance, l'oscillation radiale et l'implosion de bulles de gaz et de vapeur dans un liquide soumis à une phase de dépression. La dépression peut avoir deux origines différentes :

- elle est liée à un écoulement de liquide à forte vitesse, par exemple dans un venturi, ou bien au voisinage d'une pale dans une pompe ou encore sur l'hélice d'un bateau. Une zone de forte vitesse dans un fluide correspond à une faible pression. On parle de cavitation hydrodynamique, découverte par Lord Rayleigh en 1917.
- elle est liée aux variations de densité d'un liquide soumis à une onde acoustique, on parle alors de cavitation acoustique.

On ne s'intéresse ici qu'à la cavitation acoustique.

1.1.4.2 La cavitation Acoustique

Lorsque l'amplitude de l'onde ultrasonore augmente, il peut arriver que la dépression au sein du liquide soit assez grande pour provoquer la formation de cavités et leur évolution vers des bulles de tailles micrométriques voire millimétriques. Elles peuvent être de trois types : cavités vides (en théorie, mais difficile dans la pratique), bulles gazeuses (cavités remplies d'un gaz dissout dans le liquide) et bulles contenant la vapeur du liquide constituant le milieu. L'apparition de la cavitation dépend d'un grand nombre de paramètres : puissance et forme de l'onde acoustique, température, viscosité et pression intérieure du milieu, présence d'impuretés et/ou de gaz dissout...

1.1.4.3 La nucléation

En pratique, la cavitation est initiée à partir d'un « noyau ». La nucléation est la formation de germes constituant des centres de développement de la phase gazeuse. Il y a deux types de nucléation : la nucléation homogène et la nucléation hétérogène.

Nucléation homogène : l'agitation thermique au sein des liquides peut être suffisante pour former de microscopiques cavités à la durée de vie très brève qui, lors d'un abaissement de la pression, pourront se stabiliser et croître.

Nucléation hétérogène : les interfaces fluide/solide (ou fluide/particule en suspension) peuvent être le site de micropoches de gaz facilitant la nucléation en diminuant l'énergie nécessaire à former des cavités.

Dans le cas homogène, seule la dépression imposée au milieu est responsable de la création d'une bulle. Dans le cas hétérogène l'état de la surface du solide joue aussi un rôle important. En particulier si le solide est hydrophobe la bulle sera plus facilement créée que s'il est hydrophile. En pratique, tout liquide possède toujours du gaz dissout même après dégazage, et les bulles de nucléation ne seront pas uniquement constituées de vapeur mais aussi de gaz. La quantité et la nature des gaz dissouts interviennent donc fortement dans la nucléation.

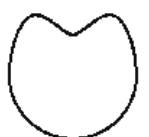
1.1.4.4 Dynamique d'une bulle soumise à un champ acoustique

Une fois créées, les bulles sont soumises au champ de pression acoustique et vont évoluer selon différents régimes en fonction des paramètres du champ. Même si les effets thérapeutiques de la cavitation sont liés à l'action d'un nuage de bulles dans son ensemble, l'examen de la dynamique d'une bulle isolée va permettre d'identifier quelques éléments de l'action des bulles de cavitation.

Depuis les premières études de Rayleigh sur le sujet, la modélisation de la dynamique d'une bulle a donné lieu à un grand nombre d'études [17–19]. Pour ne discuter que des effets les plus importants, nous nous limitons ici au modèle le plus simple. Le cas envisagé ici est celui d'une bulle sphérique dans un liquide incompressible s'étendant à l'infini et pour lequel on néglige tout effet thermique ou visqueux. Le gaz à l'intérieur de la bulle est décrit comme homogène et tous les paramètres (pression, température...) sont supposés uniformes à l'intérieur de la bulle. On considère les évolutions du gaz comme des transformations polytropiques de coefficient k , k pouvant prendre des valeurs entre 1 (ce qui correspond au cas d'une évolution isotherme) et γ (pour une évolution adiabatique).

Avec ces hypothèses, en combinant les équations de conservations de la masse et de la quantité de mouvement pour le fluide, et en utilisant les conditions aux limites suivantes :

- la vitesse du fluide à la surface de la bulle est égale à $\dot{R}$, avec R le rayon de la bulle,
- la pression dans le fluide à la surface de la bulle est directement reliée à la pression dans la bulle $P_B(R)$ via la loi de Laplace,



on obtient l'équation de Rayleigh-Plesset simplifiée :

$$R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 = \frac{1}{\rho} \left(P_{vap} + P_0 \left(\frac{R_0}{R} \right)^{3k} - P_\infty - \frac{2\sigma}{R} \right), \quad (1.7)$$

avec ρ la masse volumique du liquide et σ la tension de surface. R_0 et P_0 sont les rayon et pression de la bulle pour un état de référence dépendant de la quantité de gaz dans la bulle.

- Le membre de gauche caractérise la réponse dynamique de la bulle qui présente un caractère non linéaire.
- Le terme $P_{vap} + P_0 \left(\frac{R_0}{R} \right)^{3k}$ décrit la pression de gaz à l'intérieur de la bulle comme la somme de la pression de vapeur et la pression de gaz contaminant.
- Le terme $-\frac{2\sigma}{R}$ correspond à la différence de pression dans le liquide et dans le gaz au niveau de la surface de la bulle, liée à la tension superficielle. Négligeable pour les grosses bulles, il tend à résorber les bulles de faible taille.
- Enfin, P_∞ représente la pression dans le liquide loin de la bulle et correspond au terme à travers lequel l'onde acoustique force la réponse de la bulle.

En l'absence d'excitation extérieure, $P_\infty = \bar{P}_\infty = \text{cste}$, la réponse à l'équation (1.7) donne le rayon d'équilibre R_e de la bulle pour des conditions données.

En réponse à une onde de pression (P_∞ oscillant), la bulle oscille autour de son rayon d'équilibre R_e .

Pour de petites oscillations, le système est un oscillateur linéaire dont la fréquence de résonance s'écrit :

$$f_r = \frac{1}{2\pi R_e} \sqrt{\frac{3k}{\rho} \left(\bar{P}_\infty + \frac{3k-1}{3k} \frac{2\sigma}{R_e} \right)} \quad (1.8)$$

f_r est la fréquence à laquelle l'amplitude de réponse est maximum. Corrolairement, pour une fréquence d'excitation donnée f_0 , ce sont les bulles de taille d'équilibre pour laquelle f_0 est la fréquence de résonance qui répondront avec un maximum d'amplitude. Dans l'eau, la tension de surface σ peut être négligée, et l'équation (1.8) peut être approximée par [18] :

$$f_{eau} R_{eau} = 3, \quad (1.9)$$

avec f_{eau} en MHz et R_{eau} en μm .

Pour de plus fortes amplitudes, la bulle continue d'osciller radialement de manière stable, mais les termes $R\ddot{R}$ et $\frac{3}{2}\dot{R}^2$ induisent une réponse non linéaire. En plus des harmoniques, habituelles pour un oscillateur non linéaire, la bulle répond également à des fréquences sous-harmoniques ($f/2$, $f/3$...), de sortes que les fréquences émises par les oscillations de bulles sont du type $n f/m$, avec n et m entiers. Ce régime où les bulles oscillent de manière stable est appelé régime non inertiel. Dans cette situation, les oscillations stables de bulles avec notamment le

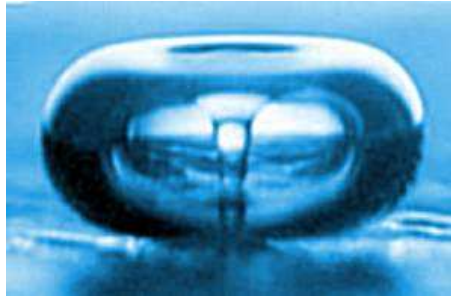


FIG. 1.3 – Photo du collapse d’une bulle près d’une paroi [21].

développement d’harmoniques élevées augmentent l’absorption et amplifient les effets thermiques [20].

Pour des amplitudes encore plus fortes, la bulle entre dans une phase de croissance explosive et grossit jusqu’à atteindre plusieurs dizaines de fois sa taille d’équilibre (R_e). À l’issue de cette phase, l’inertie du fluide environnant est responsable d’un collapse violent au terme duquel le rayon de la bulle atteint une valeur quasi-nulle. Ce collapse est suivi de plusieurs *rebonds*. Cet effondrement de la bulle sur elle-même engendre de nombreux effets physiques, chimiques et biologiques. L’implosion peut engendrer une onde de choc sphérique dans le liquide et donc créer de fortes contraintes mécaniques locales au voisinage de la bulle. Elle provoque également des conditions de températures et de pressions extrêmes à l’intérieur de la bulle. Comme de la vapeur est piégée à chaque oscillation, la concentration d’énergie peut briser des liaisons chimiques et engendrer des radicaux libres très réactifs (essentiellement $OH^\bullet$ et $H^\bullet$ dans le cas de l’eau). Ces radicaux peuvent se recombiner et/ou attaquer des molécules dans le milieu. On parle alors de sonochimie. Les conditions de température peuvent également exciter des molécules dans la phase gazeuse, qui relaxent en émettant un photon, on parle de sonoluminescence. Ce régime est appelé régime inertiel et est caractérisé par une signature acoustique large-bande liée à la brièveté du collapse. La présence d’une paroi près d’une bulle au moment du collapse va entraîner une dissymétrie lors de l’effondrement de la bulle et donc générer des micro-jets violents de liquide vers la paroi. C’est l’effet *érodant* de la cavitation inertielle (figure 1.4).

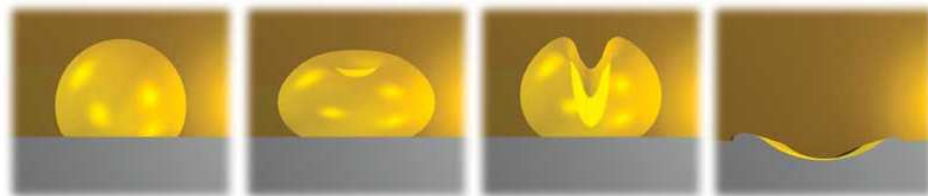


FIG. 1.4 – Collapse d’une bulle à proximité d’une paroi [22].



La prise en compte de la diffusion de gaz dans le liquide permet de décrire un effet supplémentaire lié à la croissance lente de la taille moyenne d'une bulle oscillant de manière stable. C'est la diffusion rectifiée [23–25], qui prend en compte deux effets non linéaires. Tout d'abord, à chaque expansion de la bulle, le gaz dissout dans le liquide pénètre dans la bulle, et à chaque compression, du gaz est diffusé de l'intérieur de la bulle vers le liquide. La quantité de gaz diffusé entre un milieu et un autre est proportionnelle à la surface d'échange. Le flux entrant est donc supérieur au flux sortant et la bulle contient plus de gaz à l'issue de l'oscillation : c'est l'effet de surface. De plus, lors d'une phase d'expansion, la couche de liquide qui entoure la bulle est comprimée, et contient donc une plus grande concentration de gaz dissout, ce qui entraîne un gradient de concentration élevé. Cela contribue à augmenter encore le flux entrant dans la bulle pendant une phase d'expansion : c'est l'effet de couche. Ces transferts de masse dépendent donc beaucoup de la concentration en gaz dissout dans le milieu. La diffusion rectifiée permet donc à des germes de taille inférieure au micron de croître pour atteindre des tailles plus importantes susceptibles d'être excitées par l'onde ultrasonore.

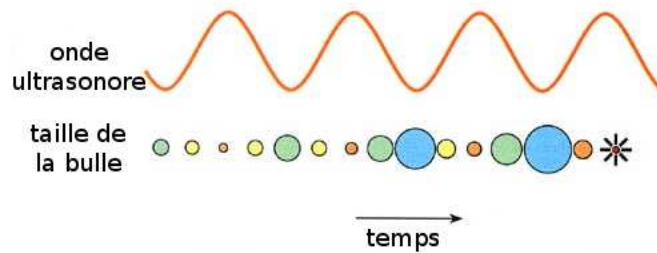


FIG. 1.5 – Évolution de la taille d'une bulle au cours du temps sous l'effet d'une onde acoustique.

1.1.4.5 Seuil de cavitation et fréquence

En plus de son influence sur la dynamique de la bulle, la fréquence de l'onde excitatrice agit également sur l'initiation de la cavitation. On appelle seuil de cavitation la pression nécessaire à faire apparaître les premières bulles. Selon l'application visée, certaines études présentent ce seuil de cavitation en fonction de l'énergie (intensité ou puissance acoustique) qui est calculée à partir de la puissance. Apfel et Holland ont montré [26] que le seuil de cavitation dépend de la fréquence : plus la fréquence est grande, plus l'amplitude de l'onde doit être importante pour pouvoir initier la cavitation. La figure 1.6 montre les résultats, obtenus dans l'eau et dans le sang. Cette augmentation du seuil de cavitation avec la fréquence a été confirmée in vitro dans une cuisse de chien par Hynynen [27].

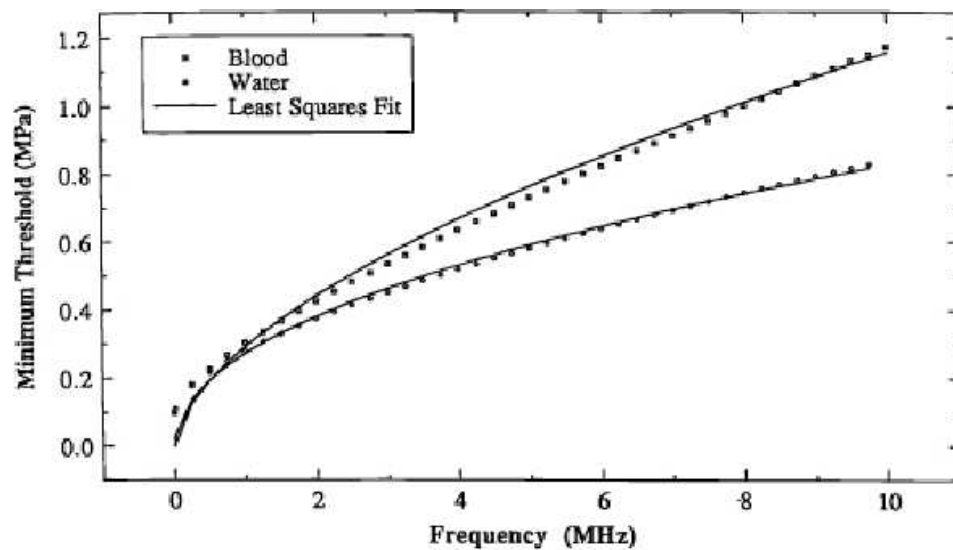


FIG. 1.6 – Évolution du seuil de cavitation en fonction de la fréquence (d'après Apfel et Holland [26]).

1.1.4.6 Caractère aléatoire de la cavitation

Comme nous venons de le voir dans cette section sur la cavitation ultrasonore, la dynamique de la bulle, et encore plus la nucléation de la bulle, dépendent de nombreux paramètres comme la présence d'inhomogénéités et les concentrations des différents gaz dissouts. Ces paramètres seront d'autant plus mal maîtrisés qu'ils peuvent évoluer significativement au cours d'une expérience de cavitation : en effet, l'activité de cavitation peut avoir un effet de dégazage du milieu, créer des micropoches de gaz en paroi, réchauffer localement ou même globalement le milieu, sans compter les dégradations mécaniques des surfaces et les dénaturations du milieu lui-même dans le cas de tissus biologiques.

Par ailleurs, à côté du comportement de la bulle isolée, il faut considérer le problème de l'interaction des bulles entre elles. Cette interaction complexe et fortement non linéaire est de nature à amplifier encore la sensibilité du développement de la cavitation à une multitude de paramètres [28]. Lors des tirs ultrasonores, on observe expérimentalement que pour un jeu de conditions expérimentales fixées, le développement du nuage de bulle peut énormément varier, révélant la sensibilité du phénomène aux infimes variations des paramètres expérimentaux. Différents travaux mettent par exemple en évidence l'apparition de filaments de cavitations qui se développent de façon erratique dans le milieu, un peu à la façon des éclairs dans le ciel [29, 30]. De façon générale, la dynamique des nuages de bulles est un sujet de recherche actuel, qui fait l'objet de travaux récents [31–34] mais qui dépassent le cadre de la présente thèse. En effet, la phase d'initiation du nuage,



qui est la phase qui nous intéresse particulièrement ici, très sensible aux conditions initiales, reste difficile à appréhender.

En pratique, la cavitation revêt donc un caractère aléatoire très marqué, tout particulièrement dans la phase d'initialisation du phénomène. Comme nous le verrons dans le chapitre suivant, des configurations expérimentales particulières ont été adoptées dans nos travaux pour fournir des résultats quantitatifs et reproductibles sur l'apparition de la cavitation inertielle.

1.1.4.7 Les effets de la cavitation acoustique en thérapie ultrasonore

Dans la plupart des applications thérapeutiques, le phénomène de cavitation joue un rôle important dans le processus d'interaction de l'onde ultrasonore avec les tissus biologiques, tant sur le plan des effets thermiques, mécaniques, que chimiques. En effet, l'oscillation de bulles développées au sein des tissus sous l'effet du passage d'une onde ultrasonore de forte intensité augmente largement l'absorption par le milieu, et joue donc un rôle important dans la formation des lésions thermiques visant à détruire les tissus malades [35,36]. Elle induit aussi des micro-courants permettant par exemple une meilleure assimilation des médicaments par brassage [37, 38]. Ces écoulements peuvent aussi favoriser la transfection par sonoporation qui est un processus de transfert de substances chimiques ou de gènes en créant des micro-pores dans la membrane des cellules [39]. L'implosion de bulles de cavitation (régime inertiel) constitue un autre mode d'action important, notamment impliqué dans la désagrégation de calculs ou de caillots sanguins [16,40,41]. Lors du collapse, de violents microjets peuvent altérer mécaniquement les tissus ou détruire les cellules. La cavitation inertielle jouerait aussi un rôle dans la transfection par sonoporation [42,43].

1.2 Les excitations multifréquentielles

Beaucoup d'études se sont penchées sur l'utilisation de champs multifréquentiels et ont montré que ce type d'excitations pouvait augmenter l'activité de cavitation. Les premières concernaient surtout la sonoluminescence, l'objectif étant d'augmenter les effets de médicaments anti-tumoraux comme les porphyrines.

Les premiers travaux de recherche [44–48] consistaient en la superposition du second harmonique avec un seul transducteur, focalisé, à des fréquences de l'ordre du MHz. Les différentes études de ce premier type d'excitation multifréquentielle évaluaient l'efficacité de cette superposition du second harmonique en jouant sur les intensités (fondamentale plus importante ou égale), mais aussi sur le déphasage de la deuxième onde par rapport à la fondamentale. Dans tous les cas, l'utilisation d'un champ bifréquentiel de type " $f_0 + 2f_0$ " augmentait l'activité de cavitation par rapport à une excitation monofréquentielle. Selon Umemura [47], l'utilisation d'un champ multifréquentiel pourrait faciliter l'activité de cavitation inertielle en agissant sur la diffusion rectifiée en allongeant les phases de transfert.

À la même époque, Iernetti et al. [49] proposent de superposer une onde basse fréquence ($BF = 20$ kHz) à une onde haute fréquence ($HF = 700$ kHz). Le champ HF est émis par un transducteur focalisé, le transducteur BF est plan et placé perpendiculairement à l'axe du transducteur HF . Les résultats montrent que l'activité de cavitation inertielle obtenue en utilisant les deux transducteurs est supérieure à la somme algébrique des efficacités obtenues par les champs BF et HF agissant séparément. D'autres études [50–52] ont alors poursuivi cette approche, le transducteur HF focalisé et le BF plan placé perpendiculairement. Ces travaux ont étudié l'influence des rapports d'intensités, de durées et/ou de types d'excitation (pulsée ou continue). Quels que soient les cas de figure, l'utilisation d'une onde BF augmente toujours l'activité de cavitation tout en diminuant le seuil de cavitation (énergie nécessaire à l'apparition de cavitation inertielle), ces deux effets étant plus ou moins importants selon les valeurs des différents paramètres cités avant. D'autres configurations [53–58] utilisant plusieurs transducteurs et plusieurs fréquences (une BF et plusieurs HF) ont montré que les champs multifréquentiels favorisaient l'activité de cavitation et ce avec moins d'énergie (seuil de cavitation diminué).

Quelle que soit la configuration utilisée, les auteurs avancent comme hypothèse d'explication la *multi-excitation* des bulles. Exciter différentes tailles de bulles augmenterait l'activité de cavitation : notamment après le collapse d'une bulle, les résidus de la bulle initiale pourront être excités et relancer un nouveau collapse. Les interactions non linéaires entre les différentes fréquences favoriseraient d'autant plus cette *multi-excitation* des bulles. En 2006, He *et al.* [59] proposent une autre voie : deux transducteurs cofocaux et coaxiaux émettent deux HF proches de l'ordre du MHz, l'écart en fréquence étant de 10 kHz. Il compare cette excitation à une excitation monofréquentielle en mesurant la taille des lésions créées dans de la viande de porc. Les lésions dues à l'excitation bifréquentielle étaient toujours plus grosses.

Toutes ces études mettant en jeu plusieurs fréquences ont montré qu'effectivement une excitation multifréquentielle abaissait le seuil de cavitation inertielle et/ou augmentait l'activité de cavitation, mais elles apportent essentiellement des informations qualitatives et n'avancent que des hypothèses pour en expliquer les effets.

1.3 La thrombolyse

1.3.1 La thrombose vasculaire

La thrombose vasculaire désigne la formation d'un thrombus, ou caillot de sang, au sein d'un vaisseau sanguin, entravant la circulation sanguine. Un thrombus est un corps visqueux (figure 1.7), semi-solide et de nature spongieuse qui se forme par coagulation du sang. Il contient des plaquettes, des globules rouges et une protéine filamenteuse appelée fibrine issue du fibrinogène sous l'action de la thrombine. Ces caillots de sang sont partie intégrante du mécanisme d'hémostase,



visant à prévenir et arrêter les saignements. Dans ce cas le thrombus recouvre la paroi endommagée du vaisseau afin de stopper l'hémorragie en obstruant les brèches vasculaires (figure 1.8), et de favoriser la réparation de l'endothélium, couche la plus interne des vaisseaux sanguins. Une fois la brèche réparée, des mécanismes physiologiques d'anti-coagulation et de thrombolyse viennent compenser ce phénomène, et détruisent progressivement le thrombus dans une phase de fibrinolyse naturelle.

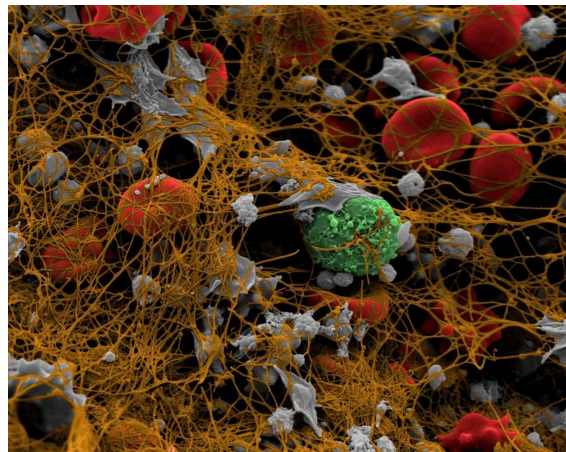


FIG. 1.7 – Photo colorisée d'un thrombus : fibre de fibrines (en orange), globules rouges (en rouge), plaquettes (en gris) et globule blanc (en vert). La taille d'un globule rouge est d'environ $7\ \mu\text{m}$ [60].

Dans des conditions normales, le caillot reste confiné aux zones lésées et n'empêche que rarement l'irrigation de régions critiques. L'évolution du caillot peut toutefois devenir pathologique. Dans ces conditions, le caillot peut éventuellement se détacher de son site et migrer via la circulation sanguine. En se logeant à l'intérieur d'un vaisseau critique, il peut l'obstruer, ou altérer le fonctionnement hémodynamique des valvules ou d'autres organes essentiels. Ainsi, la migration du thrombus, ou d'un fragment, peut provoquer une thrombose veineuse profonde (obstruction partielle ou totale d'une veine profonde), ou une embolie pulmonaire (obstruction d'une artère pulmonaire), qui sont les deux manifestations principales de la maladie thrombo-embolique. La migration d'un thrombus peut également provoquer un infarctus du myocarde et une nécrose des tissus périphériques en obstruant des artères coronaires ou des artérioles. Les facteurs favorisant l'apparition d'un thrombus sont énoncés dans la triade de Virchow :

- une lésion endothéliale (lésion de la paroi intérieure du vaisseau sanguin) : plaque d'athérosclérose (dégénérescence des artères), dysfonctionnement endothéliale ;
- une stase ou une turbulence sanguine : immobilisation prolongée, varices, compression extrinsèque de la veine ;

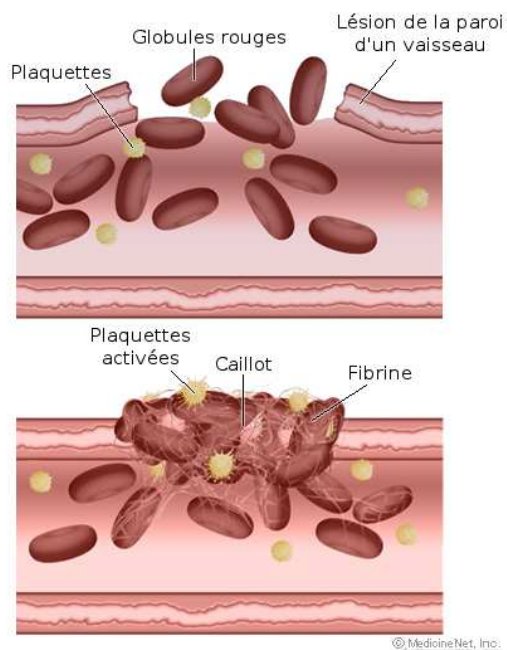


FIG. 1.8 – Hémostase : la formation de caillots sanguins est un processus naturel contribuant à empêcher les hémorragies [61].

- une hypercoagulabilité du sang : déficit héréditaire en inhibiteurs de la coagulation, grossesse, cancer.

Aujourd'hui, les techniques de traitement des thromboses se divisent en deux groupes principaux. D'un côté, les traitements médicamenteux, de l'autre, les thérapies chirurgicales invasives. Le but du traitement des thromboses est le rétablissement de la perfusion normale des tissus. Dans ce cadre, il faut d'ores et déjà garder à l'esprit que le succès du traitement de la thrombose dépend essentiellement de la rapidité avec laquelle la circulation sanguine est restaurée, la nécrose tissulaire (mort des cellules) étant étroitement liée à la durée de l'ischémie, l'ischémie étant la diminution de l'apport sanguin artériel à un organe, entraînant une baisse de l'oxygénation des tissus de l'organe et la perturbation voire l'arrêt de sa fonction.

1.3.2 Les techniques de traitement des thromboses

1.3.2.1 Les techniques chirurgicales

Ces stratégies ont pour objectif de rétablir la perfusion tissulaire, soit en recanalisant l'artère ou le vaisseau obstrué, soit en contournant la thrombose en effectuant un pontage vasculaire. Le pontage est la technique la plus invasive, et est habituellement réservée aux obstructions longues ou multiples, ou encore lorsque les



thérapies précédemment réalisées ont échoué. Le pontage consiste à court-circuiter la zone obstruée en posant une autre voie de circulation reliant les parties en amont et en aval du thrombus, et permettre ainsi la revascularisation des tissus.

L'angioplastie par ballonnet est une technique moins invasive que le pontage vasculaire. Elle vise à rétablir la circulation sanguine dans un vaisseau sténosé, c'est à dire rétréci, ou totalement obstrué par une intervention mécanique. La procédure consiste à conduire un ballonnet gonflable, fixé à l'extrémité d'un cathéter, jusqu'au rétrécissement vasculaire. Le ballonnet est gonflé minutieusement afin de forcer l'ouverture du vaisseau en l'étirant circonférentiellement. Le ballonnet est alors dégonflé et retiré. Cependant, cette technique souffre d'un taux de re-sténose relativement élevé. Pour contrer ce phénomène, l'angioplastie par ballonnet est souvent associée à la pose d'un stent, sorte de tuteur déformable fait d'un fin maillage métallique, dont les dimensions sont conçues pour s'adapter au diamètre du vaisseau à élargir. Dans ce cas, le stent est placé sur le ballonnet. Lors du gonflage, le stent s'étire et se met en place contre la paroi vasculaire. Lors du dégonflage, la rigidité du stent le maintient en place de façon permanente. La pose d'un stent, fréquemment utilisé dans la désobstruction des artères coronaires, permet de réduire le risque de re-sténose en empêchant le retour élastique du vaisseau, et permet une meilleure ouverture du vaisseau. Toutefois, de par sa nature métallique, le stent peut provoquer la formation d'un thrombus, et donc être source de re-sténose. Pour résoudre ce problème, on emploie généralement des médicaments anticoagulants dont on enduit parfois le stent lui-même.

Les techniques chirurgicales comportent de nombreux inconvénients. Elles sont invasives, ne traitent que la conséquence et non la cause principale, peuvent être difficiles à mettre en place selon les patients, peuvent requérir des installations et personnels spécifiques pas toujours disponibles. Enfin, le risque de rechute est grand.

1.3.2.2 Les agents thrombolytiques

L'utilisation de médicaments thrombolytiques est une alternative avantageuse aux techniques chirurgicales, du point de vue du coût et des contraintes. Les agents thrombolytiques agissent tous en dégradant le caillot sanguin, composé de fibrine, afin de restaurer la circulation. Ces médicaments miment l'action d'une enzyme naturelle : l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA). Cette enzyme active une protéine, le plasminogène en une enzyme, normalement sécrétée par le foie, possédant la capacité de lyser des protéines : la plasmine. C'est cette enzyme qui permet de lyser, ou casser, les réseaux de fibrine. Diverses molécules fibrinolytiques existent. Les plus répandues sont la Streptokinase, l'Urokinase, et les t-Pa (tissue plasminogene activator en anglais). Leurs mécanismes d'action sont similaires.

La Streptokinase, découverte en 1933, a été le premier agent utilisé. Les avantages de la Streptokinase sont son faible coût ainsi que son faible risque d'hémorragie intracérébrale chez les personnes âgées (0,5%). Elle est ainsi encore très utilisée aujourd'hui, mais n'est toutefois pas indiquée en cas d'accident vasculaire cérébral

récent. Cependant, elle comporte un risque d'allergie important, et voit également son efficacité réduite lors d'une deuxième administration, en raison de la formation par l'organisme receveur d'anticorps anti-streptococciques. Elle est également réputée moins efficace que les agents plus récents.

Le traitement standard est basé sur la deuxième génération de thrombolytiques telle que le rt-Pa (ou Alteplase), dérivée du t-Pa. Le rt-Pa doit nécessairement être associé à l'héparine (molécule aux propriétés anticoagulantes naturellement présente dans l'organisme) pour une bonne efficacité thrombolytique. Toutefois, l'inconvénient majeur du rt-Pa réside dans un taux d'hémorragies intracérébrales légèrement plus élevé que pour la Streptokinase, de 1% à 6% selon les études. Il convient de remarquer que les hémorragies cérébrales sont mortelles dans 50% des cas, et que 50% des survivants présentent des séquelles neurologiques. Compte tenu de leurs conséquences, l'hémorragie cérébrale est l'effet secondaire le plus redouté en fibrinolyse médicamenteuse, quel que soit l'agent envisagé. L'intérêt majeur du rt-Pa est qu'il est beaucoup moins allergène que la streptokinase.

De nouveaux agents fibrinolytiques, dits de troisième génération, ont vu le jour. Les avantages recherchés chez ces nouveaux agents sont une demi-vie allongée permettant ainsi une administration en bolus (injection intraveineuse d'une dose importante), ainsi qu'une meilleure spécificité pour la fibrine afin de limiter le taux de saignement. Toutefois, ces nouveaux produits ont pour l'instant une efficacité similaire à celle du rt-Pa ou de la Streptokinase, et comportent également des effets indésirables, parfois plus importants. Pour ces raisons, ils n'ont à ce jour pas remplacé les médicaments thrombolytiques éprouvés.

En résumé, les thrombolytiques ont un succès mitigé dans la recanalisation d'artères thrombosées, ainsi que des risques d'hémorragie très élevés. Par exemple, la fibrinolyse n'est pas recommandée chez les patients ayant des antécédents d'hémorragie digestive ou d'accident cérébrovasculaire, ce qui limite les solutions thérapeutiques. On peut également noter que des anti-coagulants tels que l'héparine, habituellement utilisés pour prévenir la formation des thrombus, sont aussi employés pour traiter les thromboses veineuses. Cependant, ce type de médicaments est inefficace pour éliminer un thrombus occlusif bien installé. Enfin, il faut souligner que le délai d'intervention est un facteur fondamental du succès du traitement par fibrinolyse.

1.3.2.3 Les méthodes pharmaco-mécaniques

Les techniques dites « pharmaco mécaniques » combinent la fibrinolyse avec des techniques mécaniques.

La technique de pharmacothérapie la plus célèbre est celle du « Pulse Spray » associée à un ballon. Elle consiste à administrer au travers d'un cathéter, une solution d'urokinase et d'héparine sous haute pression au plus près du thrombus. Cette technique permet d'obtenir une lyse totale en 20 minutes environ. Cependant, l'efficacité pourrait n'être due qu'à l'érosion du thrombus sous la pression du liquide ce qui met en doute l'intérêt d'associer un agent fibrinolytique.



La méthode dite du « Lyse and Wait » a donné des résultats similaires à la méthode du Pulse Spray. Elle consiste à injecter un mélange d'héparine et d'urokinase dans les vaisseaux thrombosés, puis à attendre avant de traiter la sténose par angioplastie. La méthode du Lyse and Wait n'est pas contrôlée et comporte un risque que le mélange soit administré en dehors du site désiré.

Quoi qu'il en soit, les techniques pharmaco mécaniques de désobstruction décrites dans la littérature comportent toujours les risques opératoires liés à l'angioplastie. Ces techniques présentent malgré tout un taux de succès élevé, proche des méthodes purement mécaniques. Elles sont également plus adaptées aux patients chez qui la fibrinolyse est risquée car l'administration du médicament est plus ciblée. Cependant, il convient de remarquer que les résultats des méthodes de désobstruction mécaniques et pharmaco mécaniques sont proches, ce qui ne permet pas à ce nouveau genre de techniques de se démarquer franchement.

1.3.3 La thrombolyse ultrasonore

Face aux contraintes des méthodes précédemment décrites, de nombreuses études ont été menées sur l'utilisation des ultrasons dans la thrombolyse. Quelle que soit la méthode employée, les ultrasons visent à limiter les risques et contraintes lors de la thrombolyse. On pourra distinguer trois méthodes principales :

- thrombolyse mécanique avec contact direct (cathéters et transducteurs miniaturisés),
- augmentation des effets des agents thrombolytiques grâce aux ultrasons,
- thrombolyse ultrasonore par voie extracorporelle, avec ou sans injection d'agents de contraste.

Les premières technologies proposées, durant les années 1990, permettaient de délivrer les ultrasons directement au contact du thrombus à l'aide d'un cathéter [62]. Deux types d'appareillage étaient alors proposés dans ce cadre. Le premier se compose d'un transducteur externe couplé à un fil métallique qui conduit l'onde ultrasonore jusqu'au bout du cathéter. Ce dispositif permet de fragmenter le caillot sanguin sans adjonction de fibrinolytiques [63]. Le deuxième type d'appareillage, développé plus récemment, se compose d'un transducteur miniature directement monté à l'extrémité du cathéter [64]. Bien que moins invasive que les méthodes de désobstruction chirurgicale, la thrombolyse ultrasonore à l'aide d'un cathéter comporte les mêmes risques, et globalement les mêmes contraintes, que l'angioplastie ; par conséquent les ultrasons n'apportent pas, dans ce type de configuration, d'intérêt. La délivrance transcutanée d'ultrasons a alors été proposée pour pallier aux inconvénients du cathéter.

Des études ont montré que les ultrasons sont capables, à intensité modérée, d'augmenter l'activité de médicaments fibrinolytiques [65]. Plusieurs mécanismes ont été suggérés comme étant impliqués dans l'augmentation de la fibrinolyse enzymatique. Le premier mécanisme semble lié au transport de l'enzyme dans le caillot. La propagation de l'onde acoustique crée des courants qui accélèrent l'assi-

milation de l'enzyme et augmentent sa pénétration à l'intérieur du caillot [66, 67], ce qui accélère le processus de dissolution. L'utilisation conjointe d'ultrasons et d'une faible dose de thrombolytique est plus efficace qu'une concentration élevée d'agent thrombolytique seul, et ce quelle que soit la classe du thrombolytique utilisé.

Il semble également que la cavitation joue un rôle significatif dans l'augmentation de la fibrinolyse sous exposition ultrasonore. Certaines études ont montré que, dans le cas de l'augmentation de l'efficacité des agents thrombolytiques, la cavitation stable jouait un rôle important plutôt que la cavitation inertielle [68]. Par contre, si on injecte des agents de contraste (micro-bulles encapsulées) c'est la cavitation inertielle qui devient plus efficace [69].

D'autres études ont alors montré que la thrombolyse par ultrasons pouvait être efficace même sans agents thrombolytiques et donc réduire les risques liés à ce genre de médicaments. En effet, les bulles implosant au voisinage du caillot sont capables d'attaquer la fibrine. Les premières études se sont donc concentrées sur l'injection d'agents de contraste pour initier la cavitation inertielle [70, 71]. La thrombolyse purement ultrasonore transcutanée est devenue très attrayante pour pallier à tous les effets secondaires des interventions in-situ ou médicamenteuses. Il s'avère que les ondes pulsées sont beaucoup plus efficaces que les ondes continues ou les ondes de choc [40]. Diverses études ont alors confirmé ces premiers résultats [41, 72], et montré que l'efficacité des ultrasons augmentait avec la durée d'exposition, l'intensité acoustique et la fréquence de répétition et diminuait avec la fréquence.

1.4 Conclusion

Depuis une vingtaine d'années, les applications thérapeutiques des ultrasons (hyperthermie, HIFU, lithotritie, thrombolyse) ne cessent de se multiplier et explorent de nombreuses voies : extracorporelle, percutanée, transrectale, laparoscopique, transoesophagienne, per opératoire. Certaines de ces applications se basent sur les effets mécaniques de l'interaction entre les ultrasons et les tissus biologiques. La thrombolyse ultrasonore en constitue un exemple, et pourrait offrir une alternative intéressante aux traitements pharmacologiques des thromboses. L'efficacité des ultrasons pour cette application est due à la présence de cavitation, en régime inertiel notamment, au voisinage des caillots sanguins.

Cependant, l'utilisation des ultrasons pose encore un certain nombre de difficultés. Aux fréquences permettant d'obtenir une bonne focalisation des faisceaux, les puissances nécessaires pour initier la cavitation inertielle sont trop importantes pour éviter la formation de lésions thermiques dans les tissus voisins. Favoriser les effets mécaniques de la cavitation tout en limitant les effets thermiques serait donc particulièrement utile pour le développement de ce type d'applications. Pour ce faire, l'utilisation d'excitations multifréquentielles paraît être une bonne piste de recherche pour abaisser les seuils de cavitation et développer une activité de ca-

vation inertielle susceptible de désagréger un caillot sanguin à l'aide d'intensités ultrasonores suffisamment modérées pour éviter tout risque de lésions thermiques dans les tissus avoisinants. Les études citées dans la section 1.2 montrent toutes l'intérêt d'insonifier avec plusieurs fréquences plutôt qu'avec une seule. Par contre l'adaptation de ces dispositifs à une application clinique reste difficile pour plusieurs raisons. Tout d'abord, ils utilisent généralement plusieurs transducteurs, ce qui rend difficile une application à la thrombolyse purement ultrasonore au niveau de la mise en place matérielle ainsi que, parfois, pour la focalisation sur le thrombus. De plus les intensités utilisées, que ce soit dans les études d'excitation multifréquentielle ou celles de thrombolyse ultrasonore [41], restent relativement élevées et laissent supposer des lésions thermiques sur les tissus avoisinants, notamment les parois vasculaires, très sensibles aux changements de température.

L'objectif de la présente thèse est d'étudier les effets d'une excitation ultrasonore bifréquentielle, composée de deux hautes fréquences proches, en géométrie focalisée, sur les seuils et activités de cavitation inertielle. La configuration envisagée présente de multiples caractéristiques intéressantes compte-tenu de ce qui précède. Sur un plan pratique, elle permet l'utilisation d'un transducteur unique pour émettre les deux composantes hautes fréquences. Sur un plan plus fondamental, la combinaison non linéaire propagative des deux fréquences primaires (effet paramétrique) génère une basse fréquence localisée dans la zone focale des faisceaux haute-fréquence compte-tenu du fait que les non-linéarités ne deviennent importantes qu'au voisinage du foyer. Une autre source de combinaison non linéaire est possible : la modulation de pression de radiation sur un objet partiellement réfléchissant ou absorbant placé au foyer. Cette combinaison non linéaire des fréquences primaires donne une vibration à la fréquence différence localisée sur l'objet cible.

Dans les deux cas, l'excitation multifréquentielle obtenue présente l'avantage de ne pas exposer l'ensemble des tissus à la composante basse fréquence.

Chapitre 2

Dispositif d'Étude de la Cavitation Ultrasonore Hétérogène

Dans l'optique d'étudier les effets d'une excitation bifréquentielle sur l'activité de cavitation inertielle, plusieurs expériences ont été menées. Ce chapitre présente les différents éléments du dispositif expérimental mis en place ainsi que les moyens utilisés pour obtenir une indication quantitative du niveau de cavitation inertielle, que nous appellerons *indice de cavitation inertielle*. Dans la dernière section, nous définirons notre critère d'apparition de cavitation inertielle ainsi que différents indicateurs d'activité de cavitation permettant de comparer l'influence des deux types d'excitation, mono- et bi-fréquentielle.

2.1 Dispositif expérimental

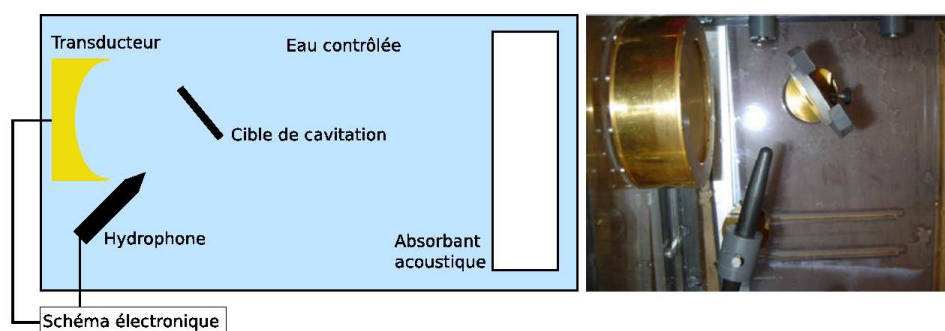


FIG. 2.1 – Schéma et photo du dispositif expérimental.

Le dispositif expérimental mis en place vise à produire des bulles de cavitation sur une cible de rugosité maîtrisée à l'aide d'un transducteur, focalisé sur la cible de cavitation, excité par un signal mono- ou bi-fréquentiel. Le tout est immergé dans une cuve d'eau filtrée dégazée. Un dispositif d'écoute passive vise à enregistrer le signal diffusé par les bulles. Ce signal sera exploité pour obtenir le seuil de cavitation ainsi que pour quantifier l'activité de cavitation. Le schéma global du dispositif expérimental est présenté sur la figure 2.1 (schéma électronique sur la figure 2.15).

2.1.1 La cuve

La cuve est en PVC, ses dimensions intérieures sont $800 \times 210 \times 350$ mm ($L \times l \times H$), l'épaisseur des parois est de 20 mm. Un couvercle peut être utilisé pour fermer la cuve afin d'éviter les échanges gazeux avec le milieu extérieur et de maintenir constant le taux de gaz dissout. Le couvercle est maintenu par des vis de façon hermétique grâce à un joint plat en mousse de caoutchouc et de la graisse de silicone pour une parfaite étanchéité. Une fois le couvercle fermé, la cuve est entièrement remplie et les bulles d'air, piégées par le couvercle, sont chassées afin

de réduire au maximum les surfaces d'échange avec l'air. Ceci permet de limiter au maximum la dissolution de gaz dans l'eau.



FIG. 2.2 – Photo de la cuve.

2.1.2 Caractéristiques de l'eau

L'initiation de la cavitation étant dépendante du nombre de nucléi présents dans le milieu, il faut essayer de contrôler au maximum les propriétés de l'eau. La cuve est donc remplie d'eau filtrée et dégazée. L'eau nous est fournie par la société *F.T.EAU*. L'eau est d'abord filtrée à $50\ \mu\text{m}$, puis à $5\ \mu\text{m}$, puis osmosée. L'osmoseur est équipé d'un tube de pression dans lequel se trouve une membrane d'osmose spiralee autour d'un tube collecteur. La porosité de ces membranes est de $0,0001\ \mu\text{m}$. Cette technologie produit une eau appelée *perméat* d'excellente qualité d'un point de vue ionique comme bactériologique. En sortie de l'osmoseur on obtient une eau avec une conductivité de $13,93\ \mu\text{S}$ ($900\ \mu\text{S}$ pour une eau brute).

L'eau osmosée est ensuite dégazée. La pompe à dégazer peut être utilisée en circuit ouvert ou fermé. En circuit ouvert, l'eau vient de l'osmoseur, passe dans la pompe et sort dans la cuve. On obtient alors une eau avec une concentration en oxygène dissout d'environ $2\ \text{mg.l}^{-1}$. Pour avoir une concentration plus faible, le système de dégazage est branché en circuit fermé sur la cuve : l'eau (une première fois dégazée) repasse dans la pompe autant de fois que nécessaire, jusqu'à atteindre le taux d'oxygène dissout souhaité. Dans ce cas on peut descendre jusqu'à $0,4\ \text{mg.l}^{-1}$.

La concentration en oxygène dissout est mesurée grâce à un oxymètre optique (sonde LDO101-01, HACH LANGE). Ce capteur, schématisé sur la figure 2.3.a, est constitué d'un élément sensible à l'oxygène, de deux LED (une bleue et une de référence) et d'une photodiode. La couche sensible est excitée par des impulsions de lumière bleue et réagit en émettant de la lumière rouge. La durée d'émission de cette lumière rouge dépend de la concentration d'oxygène dans le liquide testé. Sur

la figure 2.3.b, on peut voir que plus la concentration en O_2 est élevée, plus court sera le temps d'émission de la luminescence.

Pour chaque série d'expériences, la concentration est mesurée et maintenue constante en fermant la cuve. Pour tous les résultats présentés dans ce manuscrit, elle varie de $1,7 \pm 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$ à $5,0 \pm 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$. La cuve étant fermée, l'eau reste propre, et peut être utilisée pendant une semaine. Au-delà d'une semaine, des bactéries se développent et, même si le taux d'oxygène dissout ne varie pas, la viscosité peut augmenter à la surface de la cible. Tous les résultats présentés ici sont issus de mesures effectuées dans de l'eau dont le filtrage, l'osmose et le dégazage ont été faits moins de 5 jours auparavant.

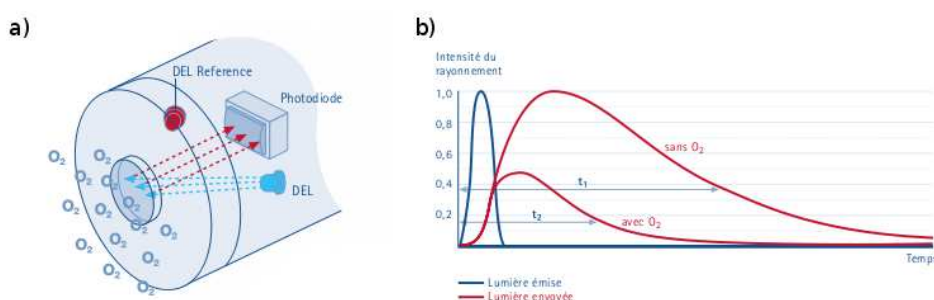


FIG. 2.3 – Principe du fonctionnement de la sonde à oxygène.

2.1.3 Les transducteurs

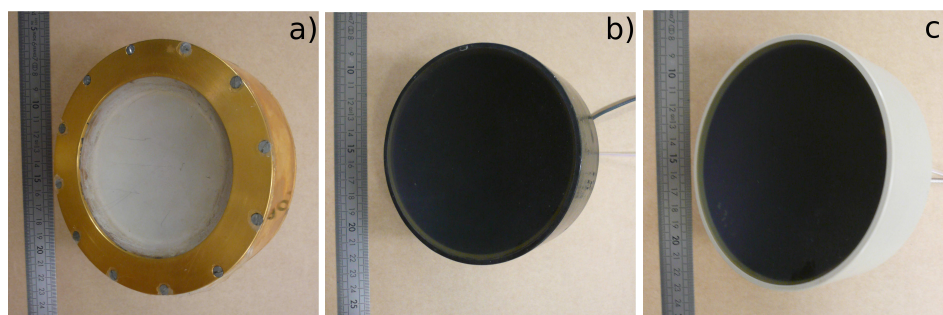


FIG. 2.4 – Photos des transducteurs : a) céramique 550 kHz, b) et c) large-bande 550 kHz.

Plusieurs transducteurs focalisés, de diamètre et de focale 100 mm, ont été utilisés pour les différentes campagnes de mesures.

Le premier (figure 2.4.a) est une calotte sphérique en céramique piézoélectrique d'épaisseur 4,7 mm, résonnant à 553 kHz ; on l'appellera par la suite

tx_céramique. Ce transducteur a été utilisé pour les expériences dont les résultats sont présentés dans les sections 3.1 à 3.4.

Ce transducteur étant très résonnant (voir figure 2.5.a), deux transducteurs large-bande ont été réalisés sur mesure, par la société *IMASONIC*, afin d'élargir la plage de fréquences d'excitation possibles. Ce sont des transducteurs mono-éléments composites de fréquence nominale 550 kHz, ayant un rendement supérieur à 60% sur la plage [400 – 600] kHz. Ils seront appelés *tx_LB1* (figure 2.4.b) et *tx_LB2* (figure 2.4.c). Le transducteur *tx_LB2* est, de plus, compatible IRM pour permettre nos futures mesures avec contrôle de température par IRM. Le transducteur *tx_LB1* a été utilisé pour les expériences dont les résultats sont présentés dans les sections 3.5 à 3.6, le *tx_LB2* pour toutes les expériences du chapitre 4.

Les impédances électriques réelles et imaginaires, mesurées avec un analyseur de réseau vectoriel *Rhode&Schwartz ZVB4* sont tracées sur la figure 2.5 pour chaque type de transducteur.

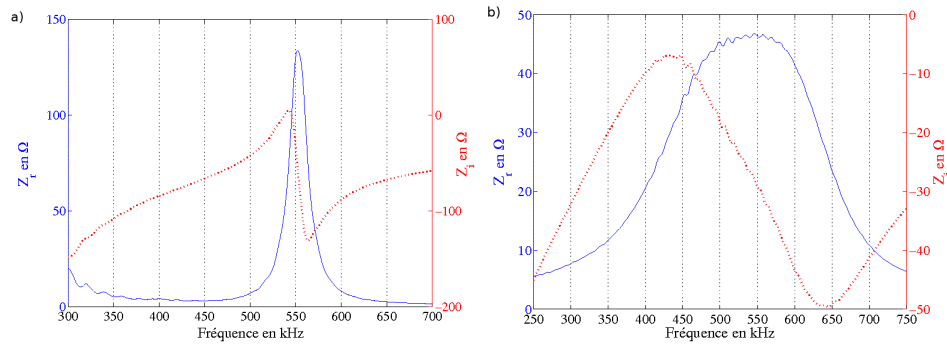
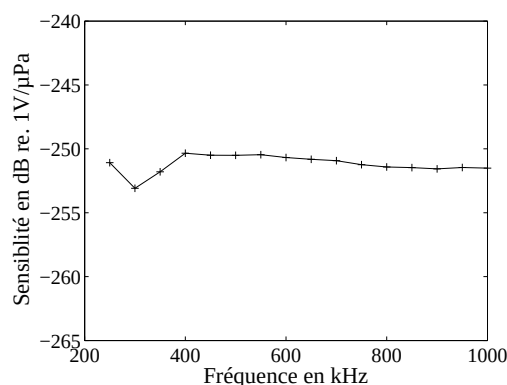


FIG. 2.5 – Impédances électriques réelles et imaginaires pour les transducteurs : a) *tx_céramique* et b) *tx_LB1*.

Les champs acoustiques pour chacun des trois transducteurs selon l'axe acoustique z et dans le plan focal xy ont été mesurés sur un banc *ONDA AIMS Scanning Tank ASTS01* avec un hydrophone *ONDA HGL400* et un préamplificateur de 20 dB, de bande passante [0, 25 MHz – 20 MHz]. La sensibilité de l'hydrophone, avec préamplificateur, est tracée sur la figure 2.6 pour une plage de fréquence de [250 kHz – 950 kHz]. Les champs obtenus sont tracés sur la figure 2.7. Les figures de gauche montrent le champ selon l'axe acoustique z et celles de droite le champ dans le plan focal xy .

Les dimensions du volume focal à la fréquence de résonance de la chaîne d'émission (qui est égale à 550 kHz pour chaque configuration) sont données dans le tableau 2.1. Les données correspondent aux dimensions du foyer à -3 dB, c'est-à-dire longueur et diamètre d'un volume ellipsoïdal, l'axe de révolution du volume focal étant l'axe acoustique du transducteur.

FIG. 2.6 – Courbe de sensibilité de l'hydrophone *ONDA* avec pré-amplificateur.

transducteur	<i>tx_céramique</i>	<i>tx_LB1</i>	<i>tx_LB2</i>
longueur en mm	18,80	18,57	19,16
diamètre en mm	2,84	2,87	2,87

TAB. 2.1 – Dimensions du volume focal à -3 dB à la fréquence de résonnance, 550 kHz, pour chaque transducteur.

2.1.4 Les cibles de cavitation

Les cibles permettent de favoriser l'apparition et la croissance des bulles, de localiser la cavitation et d'améliorer la reproductibilité des mesures par rapport à une configuration de cavitation sur particules en suspension qui nécessite un contrôle très fin pour obtenir une reproduction satisfaisante [73]. Fabriquées au laboratoire, elles se composent d'un film polyéthylène tendu sur une bague en PVC de 50 mm de diamètre au centre duquel est collée une pastille de 10 mm de diamètre de papier métallographique.

Le papier métallographique présente l'avantage d'avoir une rugosité contrôlée et d'être résistant à l'eau et à l'érosion, contrairement à du papier abrasif classique. Les types de papier utilisés sont des *abrasifs appliqués* ; ils sont constitués d'un support (du papier), d'un liant (colle animale ou résine) et de grains abrasifs (oxyde d'aluminium et carbure de silicium). Ce type de papier abrasif est identifié par la lettre P, suivi d'un nombre représentant la taille des grains selon les normes *FEPA 43/93* et *ISO 6344-1/2/3* (*FEPA : Federation of European Producers of Abrasives*). Dans cette étude les papiers utilisés sont : LP80, LP180, LP320, LP600 et LP1200. Les cibles LP80 et LP180 correspondent à des *macrograins*, les LP320 à LP1200 à des *micrograins*. Les macrograins sont obtenus par tamisage successif permettant d'obtenir une taille maximale et minimale, la taille donnée par la norme est donc moyenne et informative. Les micrograins sont obtenus par sédimentation et leur

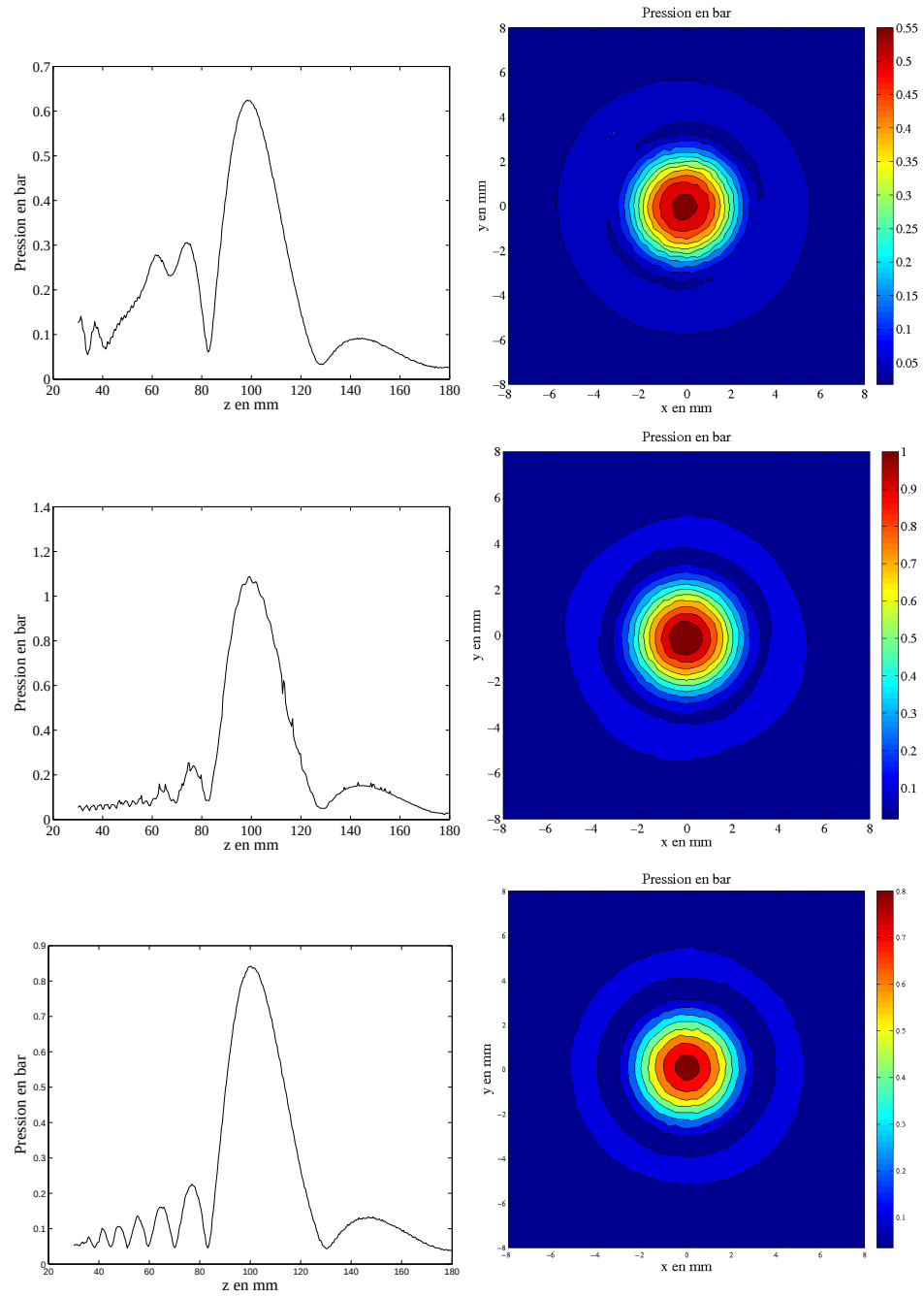


FIG. 2.7 – Champ de pression :   gauche le long de l’axe acoustique z et   droite dans le plan focal xy ; pour les transducteurs : en haut $tx_c  ramique$; au milieu tx_LB1 et en bas tx_LB2 .



FIG. 2.8 – Cible LP320 montée sur son support.

taille est mesurée avec un tube de sédimentation. Les tailles de grains correspondant aux papiers utilisés durant cette étude sont présentées dans le tableau 2.2.

La taille des grains de la cible de cavitation est donc une longueur caractéristique du problème. Les grains sont uniformément répartis sur le papier ; si on considère une bulle de la taille d'un grain (ce qui n'est pas forcément le cas en pratique), on peut calculer quelle serait la fréquence de résonance d'une telle bulle grâce à l'équation (1.8). La présence d'une paroi près de la bulle modifie cette fréquence d'environ 15% [74]. Les fréquences de résonance correspondant à des bulles de la taille des grains, en champ libre, sont données dans le tableau 2.2 pour chaque type de papier.

réf papier	LP80	LP180	LP320	LP600	LP1200
$\varnothing$ grains (μm)	201	82	$46,2 \pm 1,5$	$25,8 \pm 1,0$	$15,3 \pm 1,0$
f_{res} (kHz)	30	73	130	233	347

TAB. 2.2 – Les différents types de papier métallographique.

La réflexion acoustique des cibles a été mesurée pour les différents types de papier : l'hydrophone *ONDA HGL400* est placé 60 mm derrière la cible, elle-même positionnée au foyer, et on compare les amplitudes du signal capté en présence et en absence de la cible pour une excitation pulsée de courte durée. Les résultats ont montré que le taux de transmission en puissance est en moyenne de 75 % et varie entre 50 % et 90 %. L'inclinaison de la cible (testée de l'incidence normale à 45° par rapport à l'axe du faisceau) n'a pas en moyenne d'influence significative sur ce taux de transmission. On a donc un coefficient de réflexion en puissance voisin de 25 % : la réflexion n'est pas négligeable. Lorsque la cible est placée en incidence normale, on peut effectivement détecter en tir continu la présence d'ondes stationnaires entre le transducteur et la cible. Pour toutes nos études, la cible est placée au

foyer du transducteur et inclinée d'environ 40° par rapport à l'axe acoustique. Sauf indication contraire, la majorité des expériences est réalisée sur une cible LP320.

2.1.5 L'hydrophone

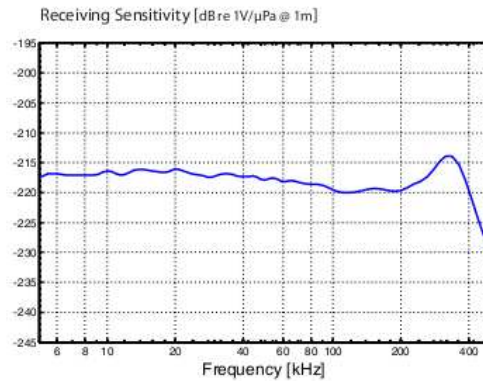


FIG. 2.9 – Courbe de sensibilité de l'hydrophone *RESON*.

Dans le cadre des expériences de mesure de seuil de cavitation, un hydrophone est placé dans la cuve pour mesurer le signal diffusé par les bulles pouvant se trouver dans le champ acoustique (au foyer en particulier). Ce qui nous intéresse est la signature acoustique large-bande de la cavitation inertielle (cf §2.4.2). En général, le bruit de cavitation inertielle est écouté sur une plage haute-fréquence ; ici, nous choisissons plutôt d'écouter sur une bande comprise entre 1 kHz et 600 kHz, afin de pouvoir mesurer en même temps la composante basse fréquence $\Delta f = f_2 - f_1$.

L'hydrophone utilisé est un *RESON TC4034*. Sa réponse est plate entre 5 kHz et 300 kHz avec une sensibilité égale à $-220 \text{ dB re } 1 \text{ V} \cdot \mu\text{Pa}^{-1}$, au-delà de 300 kHz, la courbe de sensibilité a une pente de $-0,07 \text{ dB par } 10 \text{ kHz}$ (cf figure 2.9).

L'hydrophone est placé à proximité de la cible de cavitation, comme le montre la photo de la figure 2.1 : il est situé en dehors du champ direct du faisceau focalisé mais dans le champ divergent du faisceau réfléchi par la cible dans l'hypothèse d'une réflexion géométrique parfaite sur surface plane. Cette position est adoptée afin de toujours mesurer, même en l'absence de cavitation inertielle, la trace du signal d'excitation utilisée comme référence.

2.1.6 L'absorbant acoustique

Malgré les grandes dimensions de la cuve, le signal capté par l'hydrophone n'est pas entièrement exploitable sans un absorbant acoustique placé sur la paroi opposée au transducteur. En effet, dans le cas d'une excitation pulsée ($N = 1000$ cycles) monochromatique à $f = 550 \text{ kHz}$, la distance de propagation du front



FIG. 2.10 – Photo de l'absorbant acoustique en paraffine lesté par du laiton.

d'onde dans l'eau durant le temps d'émission est de

$$\frac{cN}{f} = 1500 \times 1000 \times \frac{1}{550000} = 2,727 \text{ m} = 2727 \text{ mm}$$

Cette distance est égale à plus de trois fois la longueur de la cuve (800 mm). En l'absence d'un absorbant au fond de la cuve, l'hydrophone capte un bruit dû au champ réverbéré, ce qui *pollue* le bruit de cavitation inertielle et donc induit des erreurs lors de la quantification de l'activité de cavitation. La paraffine est un très bon absorbant acoustique pour des fréquences de quelques centaines de kHz. De plus, elle a une impédance acoustique quasiment identique à celle de l'eau : $Z_{\text{paraffine}} = 1,8 \text{ kg.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et $Z_{\text{eau}} = 1,5 \text{ kg.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. L'absorbant mis au point est donc constitué de 2,5 kg de paraffine coulée en un bloc de 185 mm × 340 mm × 50 mm et lesté avec du laiton pour compenser la faible densité de la paraffine ($\rho_{\text{paraffine}} \approx 927 \text{ kg.m}^{-3}$) et empêcher l'absorbant de flotter. Le signal capté par l'hydrophone RESON en l'absence et en présence de l'absorbant acoustique est représenté sur la figure 2.11.

2.2 Les signaux d'excitation

2.2.1 L'excitation monofréquentielle

Le signal monofréquentiel $m(t)$ correspond à un train d'ondes de 1,8 ms, constitué de sinus purs de fréquence $f_0 = 550 \text{ kHz}$:

$$m(t) = A \cos(\omega_0 t), \text{ avec } \omega_0 = 2\pi f_0. \quad (2.1)$$

Une telle fréquence se justifie par le fait qu'elle offre un bon compromis entre la taille de la zone focale, qui doit être aussi faible que possible, et l'atténuation de l'onde dans les tissus biologiques, qui doit rester la plus faible possible pour limiter les effets thermiques de l'onde dans le cadre de l'application à la thrombolyse

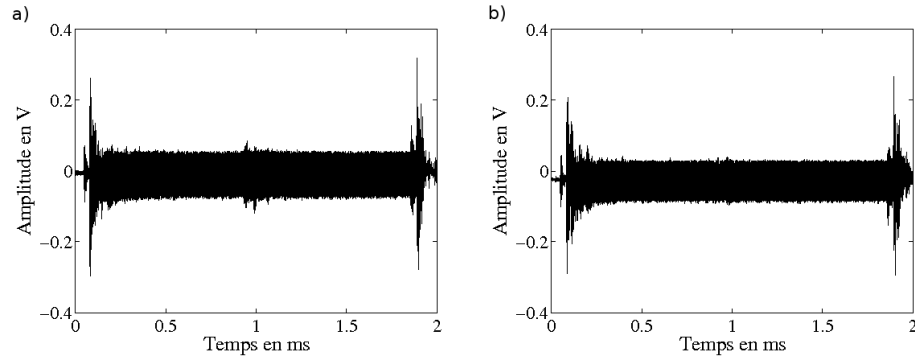


FIG. 2.11 – Signal temporel capté par l'hydrophone : a) en l'absence et b) en présence de l'absorbant.

ultrasonore envisagée. De plus, les résultats obtenus lors des essais de thrombolyse purement ultrasonore pourront être comparés à ceux obtenus par Rosenschein *et al* [41] qui ont travaillé à cette même fréquence. D'un point de vue technique, c'est la fréquence de résonance de chacun des transducteurs. Sur les figures 2.12 sont tracées une portion du signal d'émission et un exemple de signal capté par l'hydrophone *RESON*. Ce signal sera ensuite analysé afin d'en extraire le bruit large-bande caractéristique de la cavitation inertielle.

2.2.2 L'excitation bifréquentielle

Le signal bifréquentiel $b(t)$ est constitué d'un train d'ondes de 1,8 ms, correspondant à la somme de deux composantes sinusoïdales de fréquences légèrement différentes f_1 et f_2 de mêmes amplitudes de pression.

$$b(t) = A (\cos(\omega_1 t) + \cos(\omega_2 t)), \text{ avec } \omega_1 = 2\pi f_1 \text{ et } \omega_2 = 2\pi f_2. \quad (2.2)$$

Dans la majorité des expériences présentées ici, sauf indication contraire, $f_1 = 535$ kHz et $f_2 = 565$ kHz. Une fréquence différence $\Delta f = (f_2 - f_1)$ de 30 kHz est choisie pour avoir un nombre significatif de périodes de la composante basse fréquence pendant la durée des trains d'ondes. D'autres valeurs de Δf , comprises entre 5 kHz et 90 kHz seront également utilisées par la suite. Les deux sinus et leur somme sont présentés sur les figures 2.13 pour un Δf de 30 kHz. La figure 2.13 montre également un exemple de signal bifréquentiel capté par l'hydrophone *RESON*. Dans cet exemple le signal est un peu déformé ; ceci s'explique par la présence de bulles (oscillantes mais non collapsantes) à l'origine d'un processus de diffusion non linéaire qui *enrichit* et donc déforme le signal.

Les formes des signaux captés par l'hydrophone évoluent fortement avec l'intensité, surtout dans le cas bifréquentiel. A faible puissance, on est dans une confi-

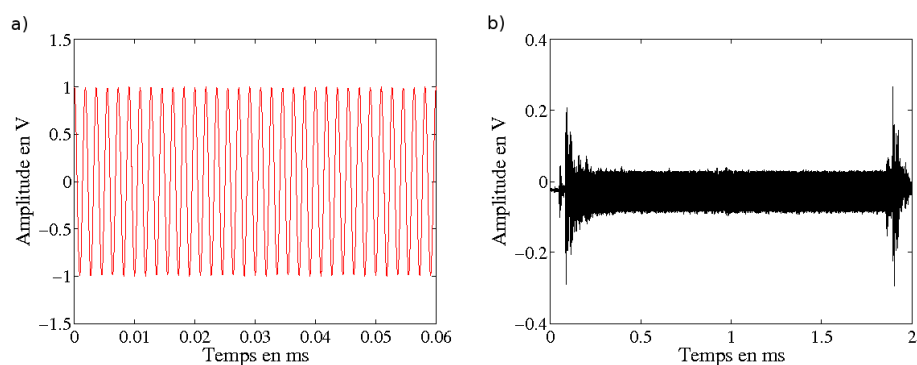


FIG. 2.12 – Signal temporel monofréquentiel a) généré (zoom) et b) un exemple de signal capté par l'hydrophone *RESON*.

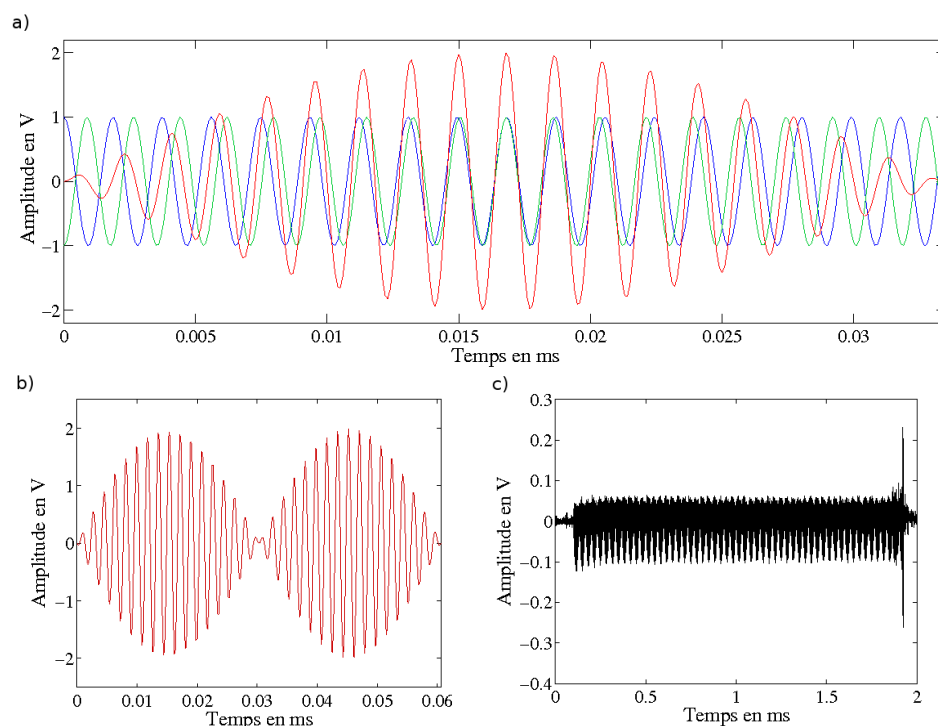


FIG. 2.13 – Signal temporel bifréquentiel : a) les deux sinus, $f_1 = 535$ kHz en bleu, $f_2 = 565$ kHz en vert et la somme des deux en rouge ; b) le signal généré (zoom) et c) un exemple de signal capté par l'hydrophone *RESON*.

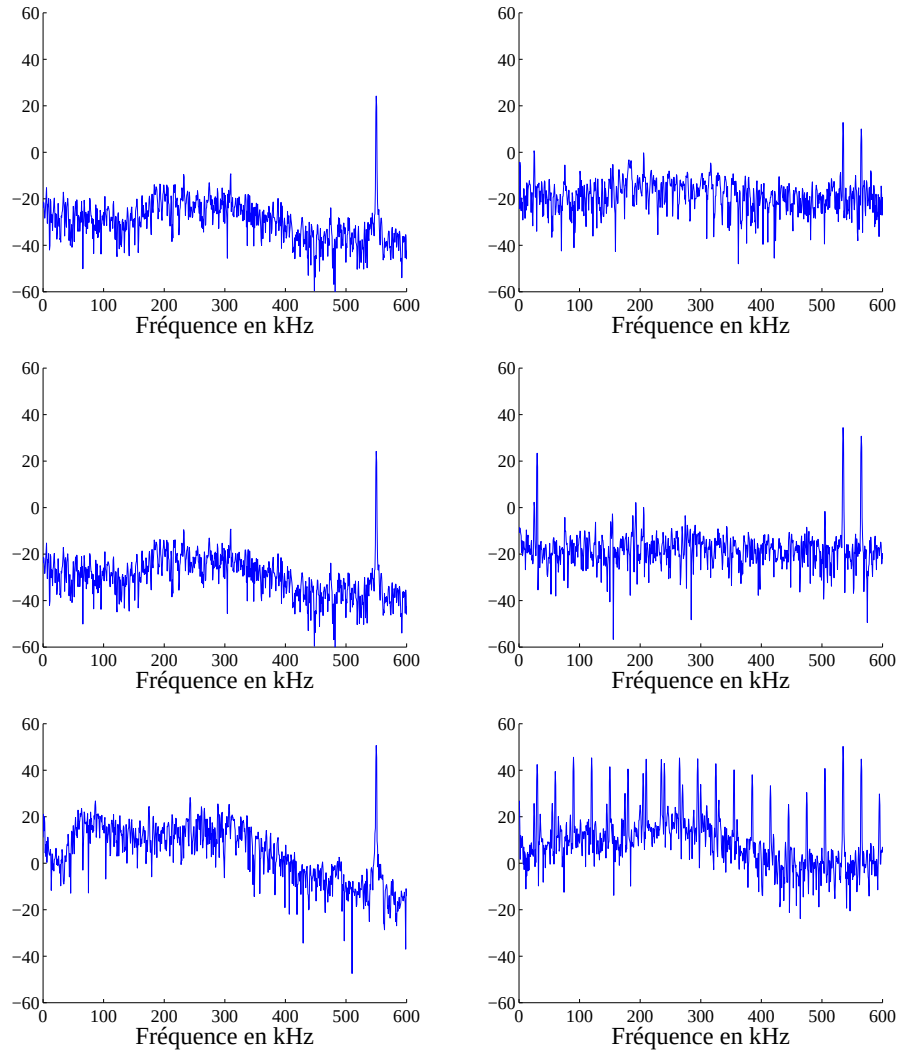


FIG. 2.14 – Spectre des signaux captés par l'hydrophone : à gauche pour une excitation monofréquentielle et à droite pour une bifréquentielle. En haut, à faible puissance : présence des pics d'excitation. Au milieu, à puissance moyenne : apparition des 1^{ers} pics, à $\Delta f = f_2 - f_1$ et à $f_1 - \Delta f$. En bas, à forte puissance : émergence du fond continu dû à la présence de cavitation inertielle



Condition de comparaison	Comparaison des...		
	...amplitudes des sinus	...amplitudes crêtes	...intensités moyennes
Même amplitude des sinus	$P_1 = P_2 = P_m$	$P_{cb} = 2 P_{cm}$	$I_b = 2 I_m$
Même amplitude crête	$P_1 = P_2 = \frac{1}{2} P_m$	$P_{cb} = P_{cm}$	$I_b = \frac{1}{2} I_m$
Même intensité acoustique	$P_1 = P_2 = \frac{1}{\sqrt{2}} P_m$	$P_{cb} = \sqrt{2} P_{cm}$	$I_b = I_m$

TAB. 2.3 – Comparaison des signaux mono- et bi-fréquentiel en terme d'intensité et de pression acoustique, avec P_1 P_2 les amplitudes des sinus primaires du bifréquentiel, P_m l'amplitude du monofréquentiel, P_{cm} et P_{cb} les amplitudes crêtes des mono- et bi-fréquentiel, I_m et I_b les intensités moyennes mono- et bi-fréquentielles.

guration linéaire, les spectres ne présentent donc que des pics aux fréquences d'excitation. A puissance moyenne, la non-linéarité commence à s'installer et se traduit donc spectralement par l'émergence d'un pic à la fréquence différence Δf dans le cas bifréquentiel et des pics aux harmoniques des fréquences d'émission pour les deux excitations. A fort niveau, la non-linéarité devient plus importante et des pics apparaissent aux fréquences $n f_1 \pm m f_2$ (n et m étant des entiers quelconques) en bifréquentiel. A ces puissances, pour les deux types de signaux, le fond continu, révélateur de la présence de cavitation inertielle, augmente fortement, en se superposant aux pics existants pour le bifréquentiel. Des exemples de spectres obtenus à partir des signaux captés par l'hydrophone pour les deux excitations sont tracés sur la figure 2.14. Ils sont tracés pour une bande de fréquence $[0 - 600 \text{ kHz}]$, et ne révèlent donc pas la présence d'harmoniques supérieurs.

Afin de comparer les effets des deux excitations sur la cavitation inertielle tout en s'assurant de limiter les échauffements, on s'attachera à comparer ces signaux à intensités égales. Les comparaisons en termes d'intensités et de pression acoustiques sont présentées dans le tableau 2.3

2.3 La chaîne électronique

Le schéma de la figure 2.15 représente la chaîne électronique du dispositif expérimental en fonction du type d'excitation. Pour pouvoir faire varier simplement les paramètres des signaux d'excitation, il est pratique de pouvoir contrôler indépendamment f_0 , Δf et les amplitudes des signaux primaires de l'excitation bifréquentielle. Dans un premier temps, deux générateurs (*HP33220A*) et un additionneur analogique ont été utilisés pour générer le signal bifréquentiel. Un troisième

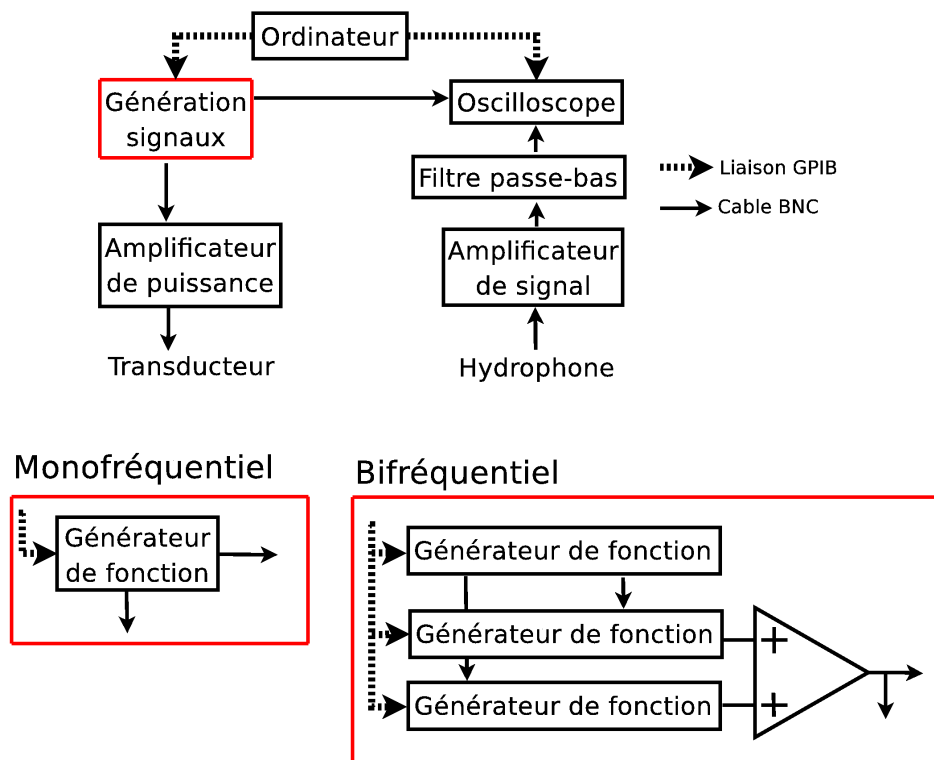


FIG. 2.15 – Schéma de la chaîne électronique du dispositif expérimental.

générateur (*HP33220A*) est mis en place afin de synchroniser les deux premiers. Par la suite, le dispositif expérimental est simplifié en remplaçant ces trois générateurs par un générateur deux voies avec additionneur interne (*TEKTRONIX*).

La mesure est entièrement pilotée par ordinateur via un bus GPIB (*NI GPIB-USB-HS*). Le signal d'excitation passe ensuite par un amplificateur de puissance 800 W (*PRANA Ampar801*) qui délivre le signal amplifié au transducteur, via un dispositif d'adaptation d'impédance pour le *tx_céramique*, les deux autres étant naturellement correctement adaptés. La linéarité de l'amplificateur a été vérifiée, y compris pour les plus fortes tensions utilisées. Le bruit de cavitation diffusé par les bulles est capté par l'hydrophone *RESON*. Ce signal est ensuite amplifié puis filtré. L'amplificateur de signal est un *SEA A17dB*, son gain mesuré sur une impédance $50\ \Omega$ est de 15,5 dB. Pour pouvoir visualiser le signal d'excitation qui est aux environs de 550 kHz, la gamme de fréquence s'étend jusqu'à 600 kHz. La fréquence d'échantillonnage de 5 MHz nous fournit des spectres jusqu'à 2,5 MHz. L'analyse des spectres pour étudier les seuils de cavitation se concentre sur la gamme fréquentielle [20 – 500 kHz] (cf §2.4.2).

En ce qui concerne l'acquisition, la dynamique de mesure est un paramètre important car le niveau acoustique de la composante à la fréquence d'émission

est plus important que le niveau des composantes large-bande caractéristiques de la cavitation inertielle. L'acquisition de l'oscilloscope se fait ici sur 8 bits, ce qui correspond à 50 dB de dynamique. Pour améliorer le rapport signal sur bruit, le signal en sortie de l'hydrophone *RESON* est filtré par un passe-bas du 4^{ème} ordre. L'ensemble *hydrophone-filtre passe-bas* permet de réduire l'énergie contenue dans le signal aux fréquences d'excitation, tout en conservant les basses fréquences. Il joue également le rôle d'un filtre anti-repliement. La mesure directe à l'oscilloscope numérique est donc pertinente. Finalement, l'ensemble permet :

- d'augmenter le rapport signal sur bruit
- de supprimer tout effet de repliement.

La fonction de transfert du filtre passe-bas est tracée sur la figure 2.16. L'acquisition

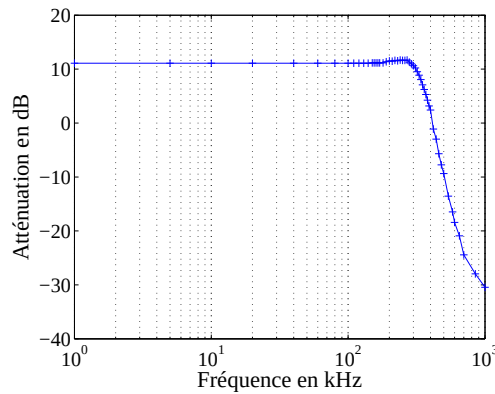


FIG. 2.16 – Fonction de transfert du filtre passe-bas.

se fait via un oscilloscope *TEKTRONIX TDS3014* par bus GPIB relié à l'ordinateur qui pilote les mesures. Une calibration de la chaîne d'émission a été réalisée avec l'hydrophone *ONDA* et le pré-amplificateur 20 dB (cf §2.1.3). La figure 2.17 présente la fonction de transfert des chaînes d'émission dans le cas du transducteur céramique d'une part et du transducteur large-bande d'autre part.

2.4 Les mesures et traitements des données

L'objectif est de caractériser le seuil de cavitation inertielle pour les excitations monofréquentielle et bifréquentielle. Plus précisément, il s'agit de déterminer la puissance à partir de laquelle on détecte la signature acoustique de l'implosion de bulles. Une expérience a été spécifiquement conçue pour mesurer rigoureusement ce seuil de cavitation.

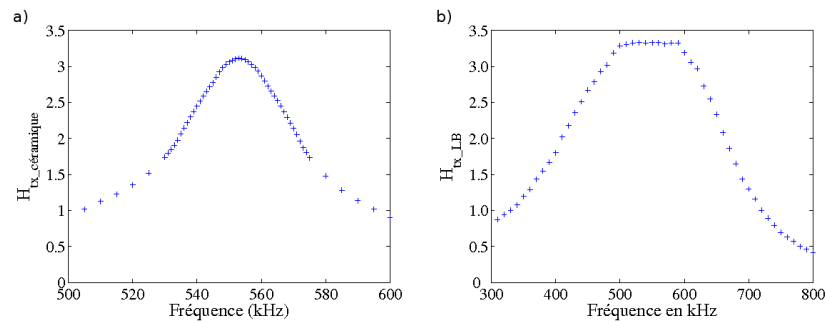


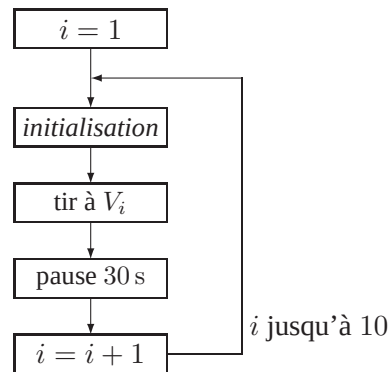
FIG. 2.17 – Fonction de transfert de la chaîne d’émission : a) dans le cas du transducteur céramique ($tx_ceramique$), b) dans le cas du transducteur large-bande (tx_LB1).

2.4.1 Principe général

Pour chaque excitation, l’expérience consiste à générer successivement des signaux de même forme mais d’amplitude croissante, en récupérant et analysant pour chaque tir le signal capté par l’hydrophone. Le processus est automatisé et piloté par un ordinateur via Matlab. Le principe de déroulement est donné sur la figure 2.18.

Avant chaque tir de mesure, un tir d’*initialisation* à un niveau suffisamment élevé est effectué. Il permet une meilleure reproductibilité en “réinitialisant” l’état de surface de la cible vis-à-vis du processus de cavitation. En effet, le *passé* de la cible peut avoir une influence sur le déclenchement de la cavitation : si, lors d’un tir précédent, il y a eu cavitation, il peut rester des microbulles emprisonnées dans les aspérités de la cible, mais il se peut aussi que le niveau de cavitation soit tel que toutes les bulles aient implosé. Afin que l’état initial de la surface de la cible soit toujours le même avant chaque tir, on effectue donc toujours un tir d’*initialisation*, qui fera imploser les bulles résiduelles du tir précédent tout en laissant un nombre voisin de germes de cavitation à la surface de la cible pour chaque tir. Pour les mêmes raisons, le programme fait une pause de 30 s après chaque tir, pour permettre aux bulles résiduelles du précédent tir de se dissoudre. Comme nous le verrons plus loin, le délai permet d’éviter l’influence d’un tir sur le suivant.

Le programme récupère ensuite le signal de tension de l’hydrophone, amplifié, filtré et échantillonné à 5 MHz. La calibration des voies de l’oscilloscope est contrôlée tout au long de la mesure de façon à ce que l’acquisition utilise toute la dynamique de l’appareil. Pour chaque expérience présentée ici les paramètres d’entrée du programme qui pilote la mesure seront les suivants : 25 amplitudes différentes, dont 15 plus concentrées sur la gamme d’amplitude qui nous intéresse plus précisément (zone de zoom), avec 3 ou 5 tirs pour chaque amplitude (5 sur la zone de zoom). Le choix de tels paramètres seront justifiés plus loin. La nuclé-



Détermination des bornes du zoom :

$V_{zoom\ min}$ et $V_{zoom\ max}$

$V_1 = V_{e\ min}$ $V_4 = V_{zoom\ min}$ $V_{20} = V_{zoom\ max}$ $V_{25} = V_{e\ max}$

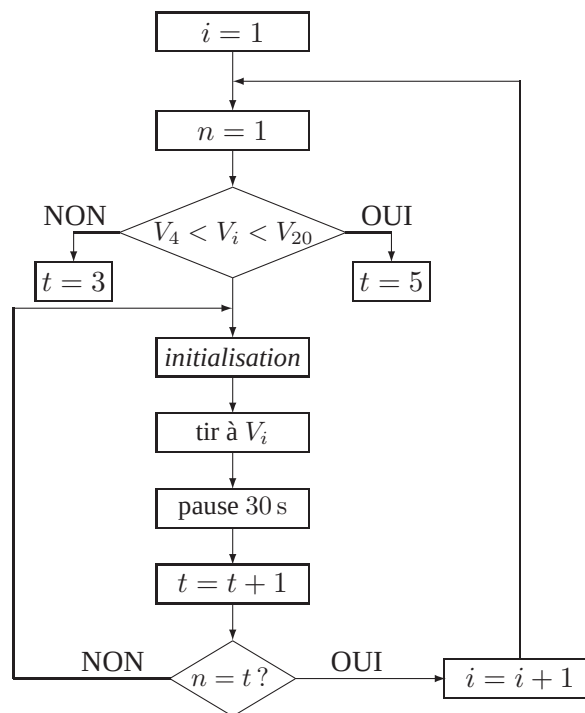


FIG. 2.18 – Synopsis du programme de mesure du seuil de cavitation inertielle.

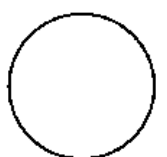
tion est un phénomène aléatoire et malgré la présence de la cible, il subsiste des fluctuations autour du seuil. En réalisant plusieurs tirs pour une même amplitude, ce programme permet d'effectuer une brève approche statistique et donc d'obtenir un aperçu des incertitudes sur le seuil de cavitation. En amont de cette expérience de montée en amplitude dont la durée totale est d'environ une heure et demie, une première montée, rapide, permet de déterminer les bornes du zoom de manière à avoir une précision correcte au niveau du seuil et jusqu'à une activité de cavitation importante dont la valeur sera présentée au §2.4.3.

2.4.2 Détermination d'un indice de cavitation

2.4.2.1 Le traitement des données

Pour comparer, pour des formes de signaux d'excitation différentes, l'intensité nécessaire pour faire apparaître la cavitation inertielle, un critère quantitatif précis doit être défini, qui puisse s'appliquer de façon équitable aux différents cas d'excitation. Comme évoqué dans le chapitre 1 (§1.1.4.4, la cavitation stable fait apparaître des sous harmoniques de la fréquence d'excitation, alors que la cavitation inertielle se manifeste par l'émergence d'un bruit large bande. L'intégration de cette composante large-bande sur la gamme $[0 - 500 \text{ kHz}]$ constituerait un bon indicateur du niveau de cavitation inertielle. Un simple filtrage sur les spectres ne permet pas de s'affranchir des harmoniques tout en gardant le fond continu. Il faut éliminer les pics correspondant aux sous harmoniques des fréquences d'émission dues aux oscillations de bulles mais aussi, dans le cas d'une excitation bifréquente, les pics aux fréquences $n f_1 \pm m f_2$ (n et m étant des entiers quelconques) issus de la combinaison non linéaire des fréquences primaires f_1 et f_2 . En effet, ces composantes fréquentielles peuvent apparaître en l'absence de cavitation inertielle. Tous ces pics, présents sur la bande de fréquence observée, rajouteraient du niveau lors de l'intégration du spectre, alors qu'ils ne traduisent pas la présence de bulles qui implosent. Il faut donc, en plus du filtrage haute-fréquence analogique (hydrophone + filtre passe-bas), éliminer les pics présents sur la bande de fréquence $[0 - 500 \text{ kHz}]$. Le traitement des données comprend donc une étape s'apparentant à un liftrage cepstral.

Tout d'abord, on sélectionne la zone temporelle du signal à analyser, c'est-à-dire la partie qui correspond au régime établi (figure 2.19). Une fois la valeur moyenne soustraite, le signal est pondéré par une fenêtre de Hanning. La transformée de Fourier du signal montre clairement les sous harmoniques ; pour s'affranchir de ces raies, le spectre d'amplitude est lissé : on retire les variations rapides du spectre. Ce lissage est réalisé par liftrage du cepstre : c'est à dire que l'on met à zéro les valeurs de la transformée de Fourier du logarithme du module du spectre pour $\tau > 35 \text{ Hz}^{-1}$. Le retour en échelle linéaire par transformée de Fourier inverse nous donne le spectre lissé qui correspond au fond continu du signal qui sera lié ici au bruit d'implosion des bulles. Les étapes de l'analyse sont présentées sur le synopsis de la figure 2.20.



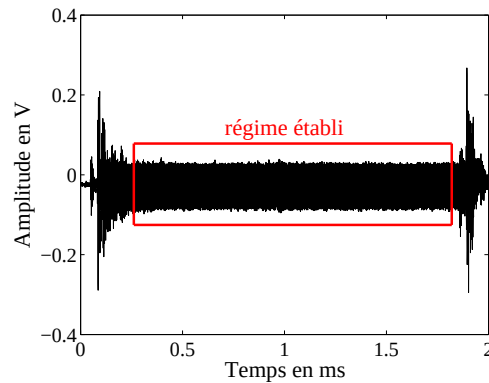


FIG. 2.19 – Signal temporel acquis : régime transitoire et établi.

Les courbes de la figure 2.21 montrent le spectre avant et après lissage pour les deux types d'excitation. Pour quantifier par un scalaire le niveau de ce fond continu, les spectres lissés sont intégrés jusqu'à 500 kHz, fréquence limite permettant de s'affranchir du ou des pics correspondant aux fréquences d'émission. Le résultat obtenu est appelé indice d'activité de cavitation (ou activité de cavitation) et noté AC , il est donné en unité arbitraire (u.a.). On obtient donc une valeur d'activité de cavitation pour chaque tir et donc pour chaque amplitude du signal généré. Pour obtenir le niveau d'activité de cavitation inertielle en fonction de l'amplitude du signal d'excitation, on trace cet indice AC , en fonction de la tension émise par le générateur. La figure 2.22.a donne un exemple de résultat dans le cas d'une excitation monofréquentielle.

2.4.2.2 Détermination de la puissance

Afin de pouvoir comparer l'évolution de l'indice de cavitation pour les deux types d'excitation (mono ou bi), on trace cette activité de cavitation AC en fonction de la puissance émise. Pour pouvoir faciliter la comparaison à d'autres études dans le cadre d'une application à la thrombolyse ultrasonore [41], cette puissance est exprimée en terme d'intensité acoustique atteinte au foyer (W/cm^2) sur la base d'une évaluation linéaire sans prendre en compte la présence de la cible, ni l'effet des bulles. Il ne s'agit donc pas de l'intensité réellement atteinte au foyer, mais plutôt d'une mesure de puissance émise, exprimée en terme d'intensité au foyer dans une configuration de référence. Ce choix se justifie par le fait que c'est cette puissance émise qui déterminerait l'intensité de chauffage d'un tir ultrasonore sur un tissu biologique, plutôt que l'intensité réellement atteinte au point focal, dans une situation où le champ ultrasonore est distribué de manière extrêmement complexe.

Les fonctions de transfert des chaînes d'émission nous donnent la tension aux bornes de l'hydrophone *ONDA* pour chaque configuration (transducteur céramique ou large-bande) sur la plage de fréquence qui nous concerne. Pour le dispositif

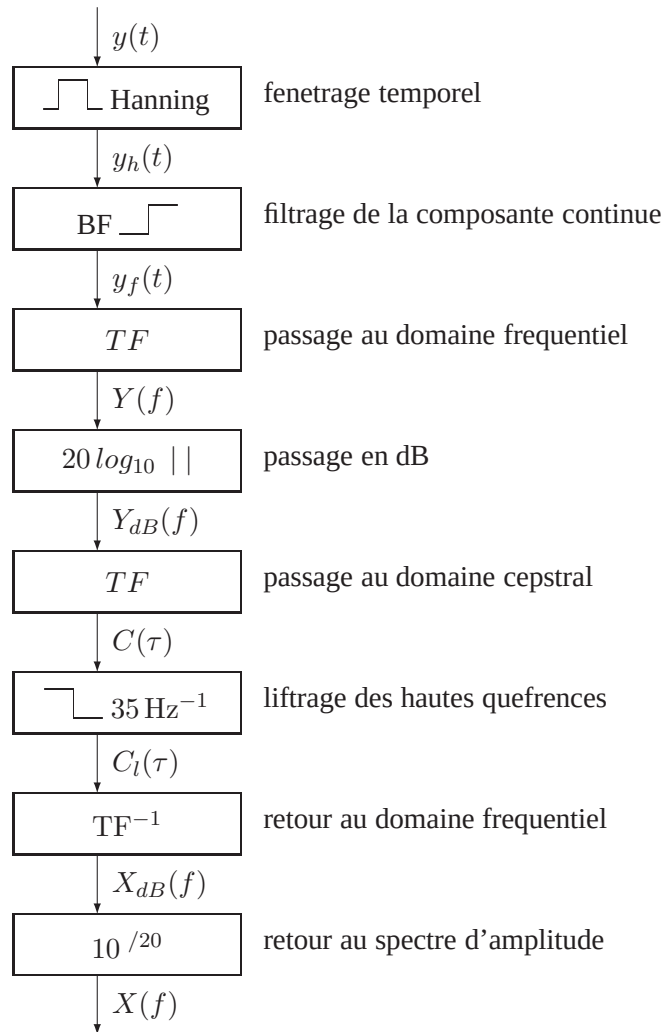
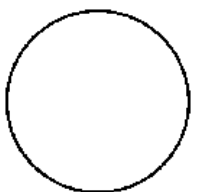


FIG. 2.20 – Synopsis des différentes étapes du traitement des données.



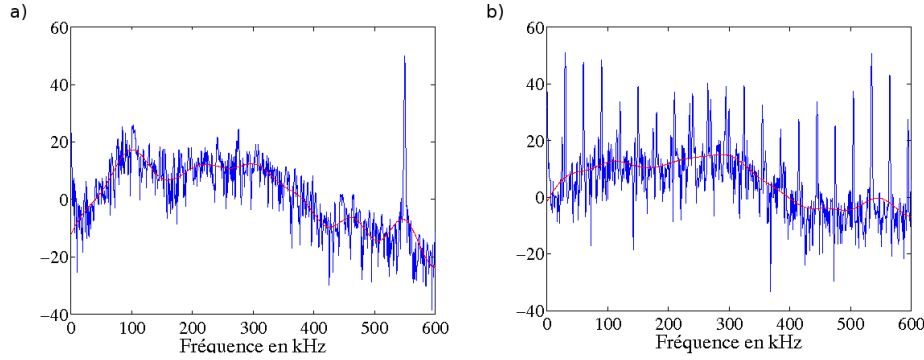


FIG. 2.21 – Spectre (bleu) et spectre lissé (rouge) pour une excitation a) mono- et b) bi-fréquentielle.

expérimental de la figure 2.1 avec le transducteur *tx_céramique* par exemple, on détermine la fonction de transfert $H(f)$. Pour une tension v_h mesurée aux bornes de l'hydrophone, la pression P en Pa correspondante est égale à la tension 0-crête multipliée par la sensibilité s_h de l'hydrophone. Et donc pour une tension d'émission crête-à-crête v_e , la pression instantanée $p(t)$ est donc égale à

$$p(t) = \frac{v_e}{2} \cdot s_h \cdot H(f_0) \cdot \cos(\omega_0 t) \quad (2.3)$$

L'intensité acoustique I en W/cm^2 correspondante est évaluée en divisant par $2\rho c$ le carré de l'amplitude de pression. Et donc à partir de la tension d'émission v_e :

$$I = \frac{(\frac{v_e}{2} \cdot s_h \cdot H(f_0))^2}{2\rho c}, \quad (2.4)$$

avec ρ et c la masse volumique de l'eau et la célérité du son dans l'eau. Dans le cas d'une excitation bifréquentielle, les pressions sont

$$P_1 = \frac{v_e}{2} \cdot s_h \cdot H(f_1) \cdot \cos((\omega_0 - \pi \Delta f)t), \quad (2.5)$$

$$P_2 = \frac{v_e}{2} \cdot s_h \cdot H(f_2) \cdot \cos((\omega_0 + \pi \Delta f)t), \quad (2.6)$$

et les intensités

$$I_1 = \frac{(\frac{v_e}{2} \cdot s_h \cdot H(f_1))^2}{2\rho c}, \quad (2.7)$$

$$I_2 = \frac{(\frac{v_e}{2} \cdot s_h \cdot H(f_2))^2}{2\rho c}. \quad (2.8)$$

L'intensité acoustique totale au foyer I_{bi} est égale à la somme des intensités I_1 et I_2 :

$$I_{bi} = I_1 + I_2, \quad (2.9)$$

$$I_{bi} = \frac{1}{2\rho c} \left(\frac{v_e}{2} \cdot s_h \right)^2 (H(f_1)^2 + H(f_2)^2), \quad (2.10)$$

Le tableau 2.4 présente les tensions et intensités équivalentes pour les excitations mono- et bi-fréquentielle pour chaque transducteur.

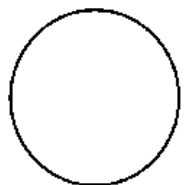
	Monofréquentiel		Bifréquentiel			
	$V_{e\ c-c}$ V	I_{mono} W/cm ²	$V_{1\ c-c}$ V	$V_{2\ c-c}$ V	$V_{e\ c-c}$ V	I_{bi} W/cm ²
tx_céramique	0,0404	1	0,11	0,09	0,20	1
	1	613	1	1	2	103
tx_LB1	0,0372	1	0,0683	0,0685	0,1368	1
	1	723	1	1	2	213

TAB. 2.4 – Comparaison tension-intensité pour les deux types d'excitation (tension en V, intensité en W/cm²) pour les transducteurs tx_céramique et tx_LB1.

On peut donc maintenant tracer l'activité de cavitation en fonction de la pression au foyer et/ou en fonction de l'intensité acoustique (figures 2.22.b et 2.22.c). Afin de vérifier cette méthode d'évaluation de l'intensité au foyer en fonction de la tension d'émission, des mesures in situ à fortes amplitudes ont été réalisées en plaçant un hydrophone supportant les fortes puissances et placé au foyer en l'absence de cible. L'hydrophone utilisé est un MÜLLER-PLATTE 100-100-1, dont la sensibilité est égale à $-279,2 \text{ dB re } 1 \text{ V} \cdot \mu\text{Pa}^{-1}$ sur la plage de fréquence $[250 - 1000] \text{ kHz}$. Les figures 2.23 et 2.24 représentent les signaux temporels obtenus à différentes intensités : I_{mini} , intensité de calibration et I_{max} , intensité maximum utilisée pendant les mesures pour les deux types d'excitation. Les formes d'onde à forte puissance sont toujours d'allure sinusoïdale ; on peut donc en déduire l'intensité acoustique à partir de la sensibilité de l'hydrophone MÜLLER-PLATTE et comparer aux valeurs obtenues par la méthode décrite plus-haut. Le tableau 2.5 présente ces comparaisons. Les faibles écarts obtenus à I_{max} où les non-linéarités sont les plus importantes permettent de valider la méthode choisie pour évaluer l'intensité acoustique au foyer. Les écarts paraissent plus importants pour les faibles intensités, mais reflètent en fait le bruit de fond et le niveau d'incertitude des mesures.

2.4.3 Seuil et activité de cavitation inertielle

Compte tenu de ce qui a été dit au paragraphe précédent, la courbe de la figure 2.22.c représente le niveau de cavitation inertielle en fonction de l'intensité au foyer. L'objectif est maintenant de définir un seuil de cavitation inertielle à partir de cette courbe. Pour cela, il faut d'abord analyser la reproductibilité des résultats donnant ce type de courbe, afin de vérifier la pertinence de la détermination d'un seuil de cavitation inertielle.



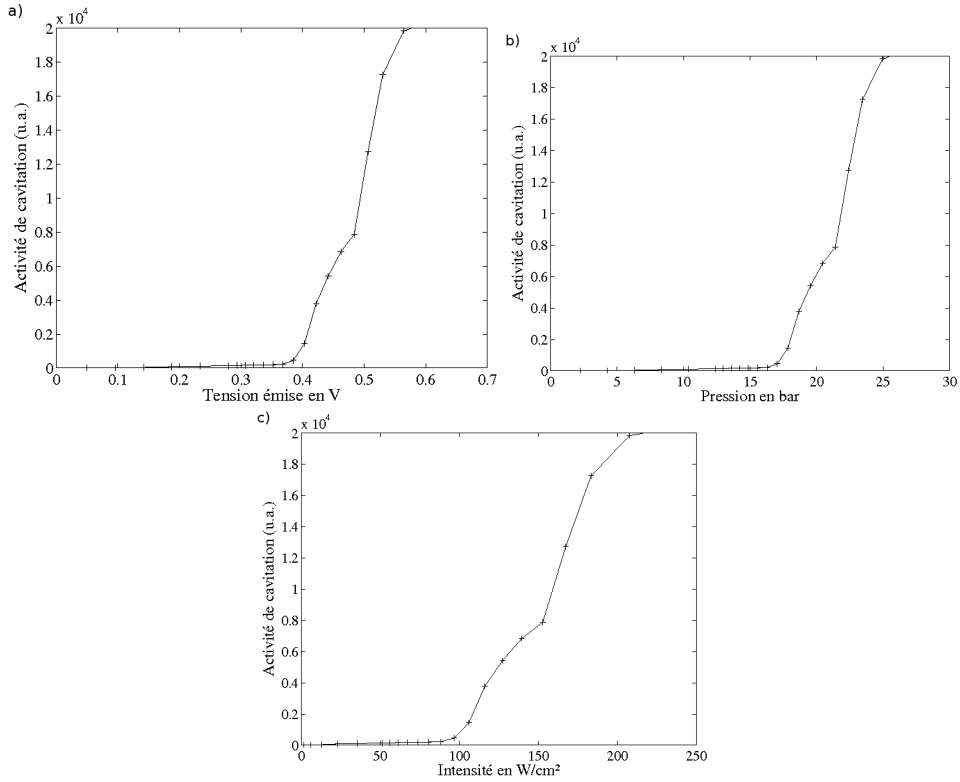


FIG. 2.22 – Activité de cavitation en fonction de a) la tension émise (en V) par le générateur de fonction, b) la pression au foyer (en bar) et c) l'intensité acoustique (en W/cm^2) évaluée au foyer en l'absence de cible.

2.4.3.1 Reproductibilité des résultats

Malgré la présence d'une cible de cavitation qui doit assurer une bonne reproductibilité de la cavitation, le caractère aléatoire de cette dernière oblige à vérifier la reproductibilité des courbes d'évolution de l'activité de cavitation dans les mêmes conditions expérimentales, afin de pouvoir comparer les résultats obtenus sur chaque mesure. Pour chaque tension d'excitation on effectue 3 ou 5 tirs (cf §2.4). Dans ce qui suit, tous les points de mesure sont représentés et une courbe reliant les valeurs moyennes des 3 ou 5 tirs pour chaque tension est tracée. Un exemple est présenté sur la figure 2.25. La dispersion du nuage de points n'est pas constante le long de la courbe : pour des indices d'activité de cavitation élevés, la dispersion est assez importante mais elle diminue lorsqu'ils sont proches de zéro, et est nulle en absence de cavitation inertielle. Par conséquent, un seuil de cavitation I_S peut être précisément identifié. On le définit comme étant l'intensité à laquelle cet indice de cavitation devient non nul. Il apparaît que la cible de cavitation remplit bien son rôle : elle permet d'obtenir des seuils de cavitation reproductibles,

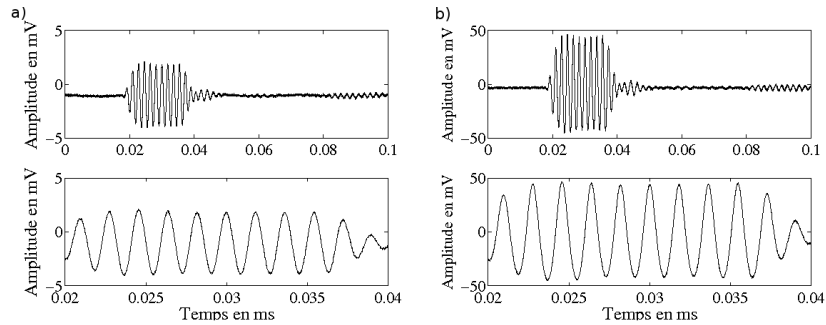


FIG. 2.23 – Forme d'onde du signal monofréquentiel pour des intensités a) minimum et b) maximum.

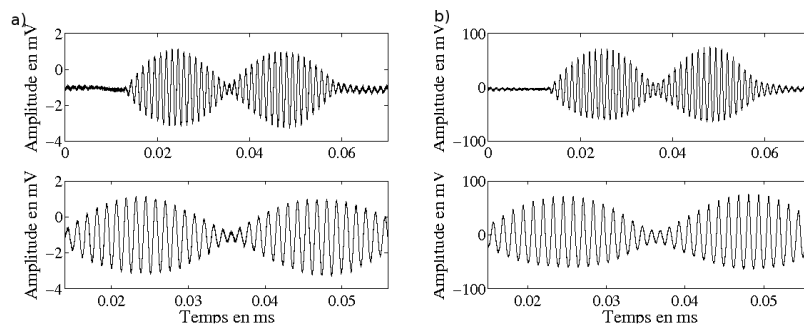
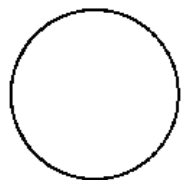


FIG. 2.24 – Forme d'onde du signal bifréquentiel pour des intensités minimum a) et maximum b).

	monofréquentiel		bifréquentiel	
	I_{mini}	I_{max}	I_{mini}	I_{max}
I_{mes} en W/cm^2	2,1	503	1,5	475
I_{cal} en W/cm^2	1,8	523	0,5	481

TAB. 2.5 – Comparaison des intensités acoustiques au foyer mesurées in situ (I_{mes}) et calculées à partir de la calibration de la chaîne de mesure (I_{cal}).



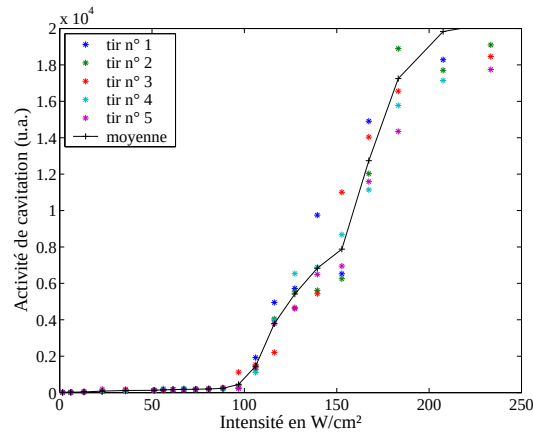


FIG. 2.25 – Activité de cavitation en fonction de l'intensité acoustique au foyer sur une réalisation statistique.

avec peu de variabilité, ou du moins beaucoup moins de variabilité qu'en l'absence de cible. Pourtant certaines séries de mesures semblent montrer des fluctuations significatives au niveau du seuil de cavitation : au premier point moyen non nul, et parfois après, certains des tirs sont encore nuls comme le montre la figure 2.26.a. Pour une évaluation quantitative précise se pose alors la question de savoir si le seuil doit alors être considéré au dernier point nul ou au premier point non nul.

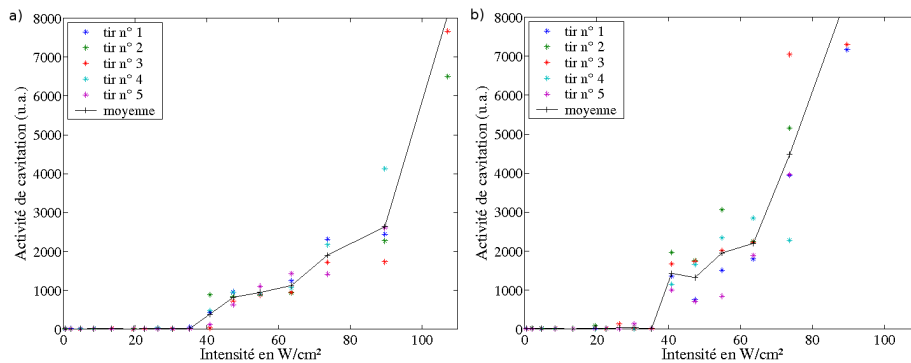


FIG. 2.26 – Activité de cavitation pour des tirs de durée a) 1,8 ms et b) 18 ms.

Pour répondre à cette question des mesures ont été réalisées avec des temps d'émission dix fois plus long. Les résultats obtenus avec un temps d'émission de 18 ms montrent que, là où il y a des fluctuations pour des tirs courts, le seuil est bien marqué. Les courbes de la figure 2.26 donnent un exemple en montrant l'activité de cavitation en fonction de l'intensité au foyer pour un tir court et un tir long, dans les mêmes conditions expérimentales. Pour le tir long, le seuil est beaucoup

mieux marqué que pour le tir court : la pente de la courbe au niveau du seuil est plus importante dans le cas du tir long et aucun tir, postérieur au seuil, ne présente d'indice de cavitation nul. Le tir long permet donc de s'affranchir du caractère aléatoire du déclenchement de la cavitation, qui se manifeste pour le tir court malgré la présence de la cible. Néanmoins, le tir court est suffisant pour définir le seuil de cavitation, comme l'illustre la figure 2.26 : en effet, le seuil peut être estimé au premier point moyen non nul de la courbe d'activité de cavitation. Les tirs longs fournissent des résultats sans ambiguïté mais ne peuvent pas continuer à être utilisés à cause des problèmes de réflexions multiples sur les parois de la cuve d'essais.

Plusieurs mesures ont été effectuées en faisant une montée en tension (tirs réalisés à différentes amplitudes croissantes) puis, dans les mêmes conditions, une descente en tension, afin d'étudier s'il y avait une hystérésis sur la succession des tirs de cavitation. En effet, il pourrait y avoir des germes résiduels des activités de cavitation des tirs précédents, si le temps de pause entre chaque tir n'était pas assez long ou si le tir d'*initialisation* n'était pas assez efficace. La figure 2.27.a fournit un

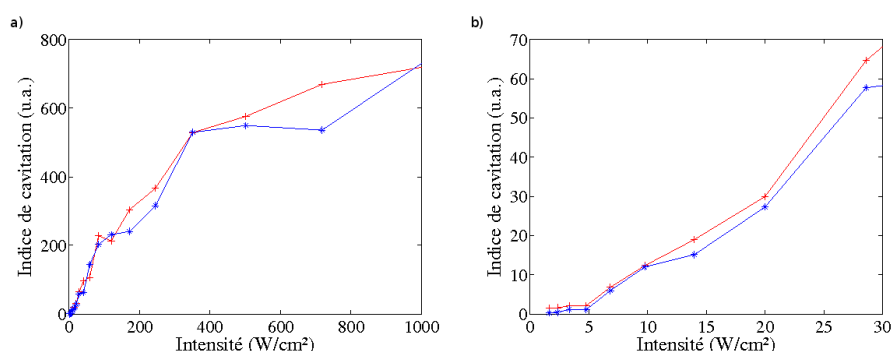
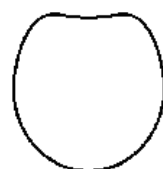


FIG. 2.27 – Activité de cavitation selon montée (étoiles bleues) et descente (croix rouges) en tension, a) zoom autour du seuil de cavitation b).

exemple de résultat de mesures réalisées en montée et en descente, dans des conditions légèrement différentes (notamment position du capteur). La figure 2.27.b est un zoom autour du seuil de cavitation. À l'image de l'illustration de la figure 2.27, toutes ces mesures ont montré qu'il n'y avait aucune hystérésis. On considère donc le temps de pause suffisant et le tir d'*initialisation* suffisamment efficace.

2.4.3.2 Les seuils de cavitation $I_{S\text{ mono}}$ et $I_{S\text{ bi}}$

Compte tenu de ce qui a été présenté ci-dessus, le seuil de cavitation est défini comme étant l'intensité acoustique du 1er point de mesure révélant une activité de cavitation non nulle. En pratique on s'aperçoit que ce n'est pas aussi simple. En effet, il peut y avoir du bruit de mesure, aléatoire, qui se superpose au bruit de cavitation. Après avoir étudié chaque spectre de chaque tir sur plusieurs séries de mesures mono- et bi-fréquentielles, on constate qu'à partir d'un indice de cavita-



tion de 500 u.a. il n'y a aucune ambiguïté. En deçà, la comparaison des spectres montre la prédominance du bruit de mesure. Dans la suite, tous les résultats présentés sont obtenus en prenant comme seuil de cavitation le premier point moyen au-dessus de $AC = 500$ u.a.. En se fixant cette règle de détermination du seuil, on obtient une bonne reproductibilité et on s'assure de comparer correctement les résultats. Pratiquement, on relève les valeurs des intensités correspondant au dernier point en-dessous de 500 u.a. (I_1) et au premier point au-dessus (I_2), comme illustré sur la figure 2.28. Le seuil de cavitation est égal à la moyenne de ces deux intensités $I_S = \frac{I_2 + I_1}{2}$. L'incertitude sur le seuil de cavitation correspond à l'incertitude de détermination du seuil et est égale à $u_{I_S} = \frac{I_2 - I_1}{2}$. La figure 2.28 montre un exemple de comparaison d'évolution d'activité de cavitation en fonction de l'intensité acoustique pour les deux excitations dans des conditions expérimentales identiques (cible LP80, 24 °C et 2,29 mg.l⁻¹). Sur cet exemple, les seuils de cavitation monofréquentiel $I_{S\ mono}$ et bifréquentiel $I_{S\ bi}$ ont pour valeurs $I_{S\ mono} = 101 \pm 5$ W/cm² et $I_{S\ bi} = 50 \pm 2$ W/cm².

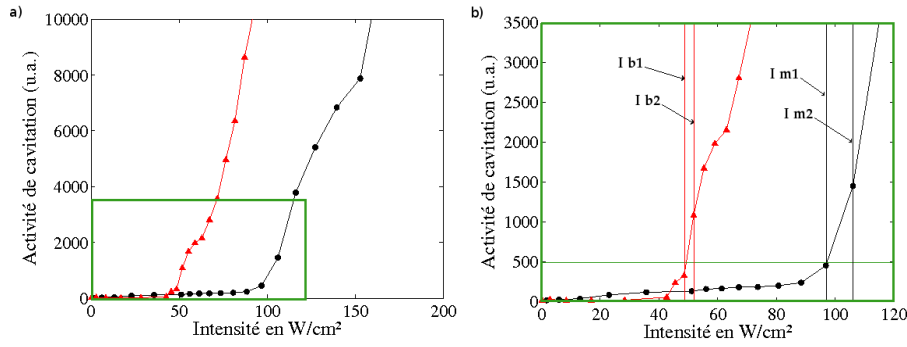


FIG. 2.28 – Mesure du seuil de cavitation inertielle I_S pour les excitations monofréquentielle (en noir) et bifréquentielle (en rouge) : a) courbe d'indice de cavitation, b) zoom correspondant au rectangle vert.

Afin de comparer l'effet des deux excitations sur le seuil de cavitation inertielle dans différentes configurations, on s'intéresse au rapport des seuils :

$$R_0 = \frac{I_{S\ mono}}{I_{S\ bi}}. \quad (2.11)$$

Dans le chapitre suivant, on étudiera l'évolution de cet indicateur en faisant varier différents paramètres. L'objectif étant de voir si un signal bifréquentiel permet de faire caviter avec moins de puissance qu'un signal monofréquentiel, on s'intéressera surtout aux cas où R_0 est supérieur à 1 pour l'application envisagée à la thrombolyse ultrasonore.

2.4.3.3 Indicateurs de forte activité de cavitation

Dans le cas de l'application à la thrombolyse ultrasonore, c'est l'évolution de l'activité de cavitation au-delà du seuil qui paraît intéressante : pour pouvoir détruire un thrombus sans lésion thermique, il faut réussir à atteindre de fortes activités de cavitation avec la plus petite puissance possible. Pour caractériser cette évolution de l'activité de cavitation, on détermine un nouvel indicateur : la pente d'activité au-delà du seuil. Elle est définie comme étant le coefficient directeur de la droite passant par le seuil et le point de la courbe correspondant à une activité de $AC = 5000$ u.a., comme le montre la figure 2.29. Un tel niveau d'activité de ca-

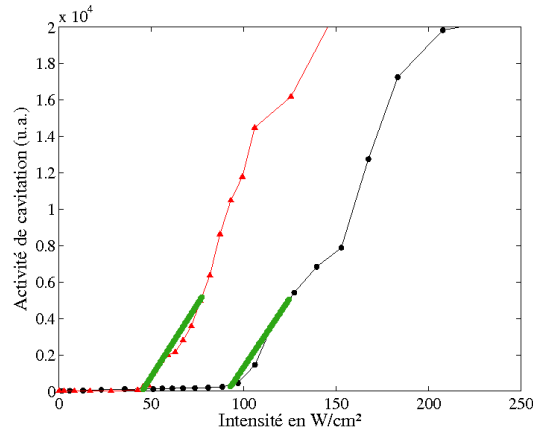


FIG. 2.29 – Mesure de la pente p d'activité de cavitation au-delà du seuil.

vitation (5000 u.a.) sera justifié dans le chapitre suivant. Les intensités nécessaires pour atteindre ce niveau d'activité sont appelées $I_{5000\ mono}$ et $I_{5000\ bi}$, correspondant aux excitations monofréquentielle et bifréquentielle respectivement. Les valeurs de ces indicateurs sont obtenues en faisant une régression linéaire entre les deux points de mesures *entourant* le point $AC = 5000$ u.a., c'est-à-dire les couples de coordonnées $(I_{5000-}; AC_{5000-})$ et $(I_{5000+}; AC_{5000+})$. Une fois calculée l'équation de la droite passant par ces deux points, on peut avoir la valeur de l'intensité correspondant à $AC = 5000$ u.a. On peut ensuite calculer la pente p de la courbe d'activité de cavitation entre le seuil et $AC = 5000$ u.a. :

$$p = \frac{5000 \text{ u.a.} - 0}{I_{5000} - I_S}. \quad (2.12)$$

En fait, d'un point de vue pratique pour une application à la thrombolyse ultrasonore, il est plus intéressant de comparer les intensités nécessaires pour atteindre un fort niveau de cavitation. On définit donc, comme pour l'étude sur le seuil, le rapport

$$R_{5000} = \frac{I_{5000\ mono}}{I_{5000\ bi}} \quad (2.13)$$



qui mesure l'efficacité relative des deux types d'excitations à atteindre une forte activité de cavitation. En étudiant l'évolution de ce rapport en fonction de différents paramètres, on verra que si $R_{5000} > 1$, cela signifie qu'une excitation bifréquentielle permet d'atteindre une forte activité de cavitation pour des puissances émises inférieures.

Chapitre 3

Cavitation Inertielle sur Cible : Effet d'une Excitation Ultrasonore Bifréquentielle



3.1 Introduction

L'expérience montre qu'avec notre dispositif, le seuil de cavitation inertielle tel que nous l'avons défini au chapitre précédent est fortement reproductible *pour des mesures effectuées dans des conditions expérimentales identiques* : en pratique, deux mesures successives fournissent précisément le même seuil pourvu que les conditions de température et de taux d'oxygène dissout restent sensiblement constantes. Mais bien sûr, les seuils de cavitation inertielle varient fortement avec les conditions extérieures de pression, température et gaz dissout dans le milieu, car les phénomènes de nucléation et d'oscillation des bulles dépendent fortement de ces conditions (cf §1.1.4).

Les nombreuses mesures que nous avons effectuées montrent ainsi des courbes d'indice de cavitation en fonction de l'intensité acoustique qui sont parfois très différentes. Sur les figures 3.1 sont tracés deux exemples de ces courbes.

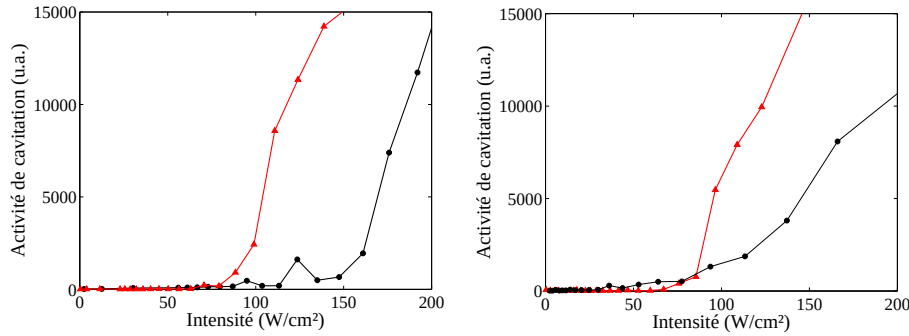


FIG. 3.1 – Exemple d'évolution d'activité de cavitation en fonction de l'intensité acoustique (en W/cm^2) pour des excitations mono- (ronds noirs) et bi-fréquentielle (triangles rouges) : a) effectuées le 15-03-2007, température de l'eau : $23,8^\circ\text{C}$, concentration en oxygène : $1,86 \text{ mg.l}^{-1}$ b) effectuées le 16-03-2007, température de l'eau : $23,6^\circ\text{C}$, concentration en oxygène : $3,16 \text{ mg.l}^{-1}$

Les courbes d'indice de cavitation données en illustration au chapitre précédent correspondent toutes à la même mesure. Ces résultats ont été obtenus avec une concentration en oxygène dans l'eau de $2,3 \text{ mg.l}^{-1}$ et les valeurs de seuils obtenus sont $I_{S\text{mono}} = 101 \text{ W}/\text{cm}^2$ et $I_{S\text{bi}} = 50 \text{ W}/\text{cm}^2$. L'utilisation d'une excitation bifréquentielle permet donc, dans ce cas, de réduire de 48 % l'intensité requise pour l'apparition de cavitation inertielle.

Il paraît clair sur la figure 3.1 que le taux d'oxygène dissout exerce une forte influence sur l'allure des courbes d'indice de cavitation, tant au niveau du seuil qu'au niveau de l'évolution d'activité de cavitation au-delà du seuil. On observe également un effet sur le comportement relatif des deux excitations. On s'appliquera donc dans un premier temps à présenter l'influence du taux de gaz dissout sur les seuils pour ensuite en déduire la nature non linéaire des mécanismes mis

en jeu dans la modification du seuil de cavitation inertielle lorsque l'excitation bi-fréquentielle est utilisée. On étudiera ensuite l'évolution de l'activité de cavitation au-delà du seuil pour des excitations mono- et bi-fréquentielles. L'influence de la position de la cible le long de l'axe acoustique du transducteur sera présentée, ainsi que l'influence de l'écart en fréquence Δf .

3.2 Évolution du seuil de cavitation avec le taux de gaz dissout

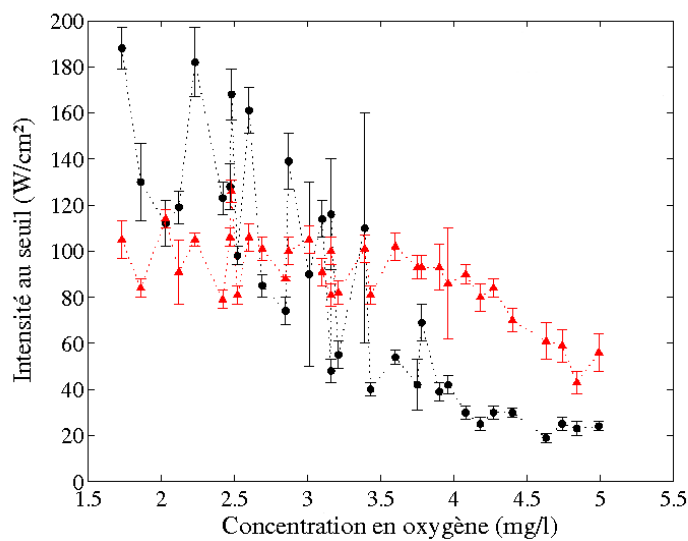
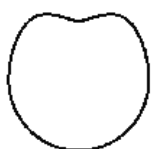


FIG. 3.2 – Évolution des seuils de cavitation mono-fréquentiel (ronds noirs) et bi-fréquentiel (triangle rouge) en fonction de la concentration en oxygène dissout dans l'eau. Les barres d'erreur montrent les valeurs minimale et maximale pour une série de 5 tirs de mesures.

Comme expliqué dans la section 1.1.4, le gaz dissout dans l'eau facilite l'apparition de cavitation. Par conséquent, plus la concentration en oxygène dissout est importante plus les sites de nucléation sont nombreux et plus les seuils de cavitation devraient diminuer. La figure 3.2 présente l'évolution des seuils de cavitation mono- et bi-fréquentiel en fonction de la concentration en oxygène dissout. Les barres d'erreurs correspondent aux incertitudes sur le seuil (voir §2.4.3.2). Ces expériences ont été menées sur une plage de concentration en oxygène allant de $1,7 \text{ mg.l}^{-1}$ à $5,0 \text{ mg.l}^{-1}$.

Comme attendu, les seuils de cavitation en mono- et bi-fréquentiel diminuent quand le taux d'oxygène augmente, mais cette décroissance n'a pas le même comportement selon le type d'excitation :



- en excitation monofréquentielle : l'intensité nécessaire à l'apparition de cavitation inertielle $I_{S\,mono}$ décroît de 160 W/cm^2 pour un taux d'oxygène de $1,7\text{ mg.l}^{-1}$ à 20 W/cm^2 pour $5,0\text{ mg.l}^{-1}$. Entre $1,7\text{ mg.l}^{-1}$ et $3,5\text{ mg.l}^{-1}$ la dispersion est très importante, de l'ordre de 60 W/cm^2 .
- en excitation bifréquentielle : le seuil de cavitation $I_{S\,bi}$ reste constant jusqu'à $4,0\text{ mg.l}^{-1}$ et commence à décroître à partir de cette valeur, mais sans atteindre les valeurs minimales obtenues en monofréquentiel. La dispersion est, quant à elle, très faible sur toute la gamme étudiée.

En ce qui concerne les barres d'erreurs, elles sont plus importantes pour des seuils obtenus à faible taux d'oxygène que pour ceux obtenus à fort taux d'oxygène, ce qui est conforme à ce que l'on pouvait attendre : pour les faibles concentrations de gaz dissout, la nucléation des bulles est plus difficile, ce qui rend le phénomène d'initiation de la cavitation plus aléatoire. Si on compare maintenant les deux types d'excitation, on constate qu'il existe aussi au niveau des barres d'erreurs une différence de comportement entre mono- et bi-fréquentiel. Même si, dans les deux cas, elles ont tendance à diminuer quand le taux d'oxygène dissout augmente, ces barres d'erreurs (qui reflètent le caractère aléatoire du phénomène) sont pratiquement toujours plus fortes avec un signal monofréquentiel qu'avec un signal bifréquentiel. Cette dispersion sera discutée plus loin (cf §3.4).

Comparons maintenant les valeurs moyennes des seuils de cavitation pour les deux types d'excitation. Au vu des résultats présentés sur la figure 3.2, l'utilisation d'une excitation bifréquentielle par rapport à une excitation monofréquentielle n'abaisse le seuil de cavitation que pour de faibles concentrations en oxygène. Dans les cas de fort taux d'oxygène le seuil bifréquentiel $I_{S\,bi}$ est supérieur au seuil monofréquentiel $I_{S\,mono}$. Pour visualiser plus clairement l'efficacité relative des deux excitations au niveau du seuil de cavitation, le rapport $R_0 = I_{S\,mono}/I_{S\,bi}$ est tracé en fonction du taux d'oxygène pour chaque couple de mesures sur la figure 3.3. Lorsque ce rapport R_0 est supérieur à 1, l'excitation bifréquentielle permet d'abaisser les seuils de cavitation. Cette représentation des résultats confirme que l'excitation bifréquentielle n'est pas toujours intéressante du point de vue de l'abaissement des seuils de cavitation. Lorsque la concentration en oxygène dissout dans l'eau augmente, R_0 a tendance à diminuer. En ce qui concerne l'incertitude sur les valeurs de R_0 , la dispersion observée sur les seuils monofréquentiels se retrouve ici.

3.3 Aspect non linéaire

Plusieurs hypothèses peuvent être proposées pour expliquer les mécanismes mis en jeu dans l'influence des formes d'onde des signaux d'excitation sur le seuil de cavitation inertielle. Par exemple :

- dans le domaine temporel, le signal peut être vu comme une modulation en amplitude sans porteuse. Cette modulation pourrait être la cause de l'abaissement des seuils car, à intensités égales, l'amplitude crête-crête est plus élevée que celle

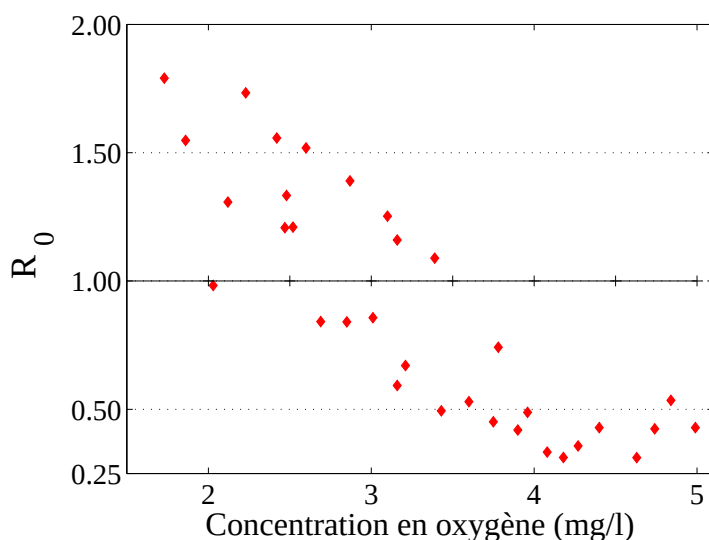
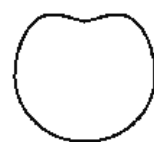


FIG. 3.3 – Rapport des seuils mono- et bi-fréquentiel $R_0 = \frac{I_{S\,mono}}{I_{S\,bi}}$ en fonction de la concentration en oxygène dissout dans l'eau.

du signal monofréquentiel (cf §2.3). D'un autre côté, la modulation pourrait aussi être un inconvénient pour abaisser les seuils du fait que les amplitudes maximales ne sont présentes que dans une plus faible portion du temps.

- dans le domaine fréquentiel, les puissances utilisées peuvent entraîner un comportement non linéaire et faire apparaître sur le spectre des pics issus de cette non-linéarité (cf figure 2.14) favorisant l'apparition de la cavitation inertielle. En effet l'excitation bifréquentielle peut être qualifiée de multifréquentielle. Le phénomène ne serait vraisemblablement pas directement lié à la présence de 2 hautes fréquences, car celles-ci sont trop proches pour constituer un intérêt du point de vue de la cavitation contrairement aux configurations présentées dans le chapitre 1 qui mettent en jeu plusieurs hautes fréquences. En revanche, une fois les non-linéarités installées, on se ramène à une configuration du type hautes fréquences (f_1 et f_2) + tout le peigne de raies ($nf_1 \pm mf_2$). Comme nous allons le voir, les résultats obtenus en faisant varier la concentration en gaz dissout peuvent aider à valider ou réfuter les deux hypothèses présentées ci-dessus.

Sur la figure 3.3, la dispersion des mesures montre que la concentration en oxygène dissout n'est pas le seul paramètre déterminant la valeur de R_0 , et remet en évidence la dispersion sur les seuils monofréquentiels observée sur la figure 3.2. Le rapport R_0 est cette fois tracé en fonction du seuil nominal, c'est à dire $I_{S\,mono}$. Cette fois la dispersion est très faible : la corrélation entre $I_{S\,mono}$ et R_0 est bien meilleure, ce qui montre que la position relative des seuils de cavitation est avant tout déterminée par $I_{S\,mono}$. Le rapport des seuils est supérieur à 1 ($R_0 > 1$)



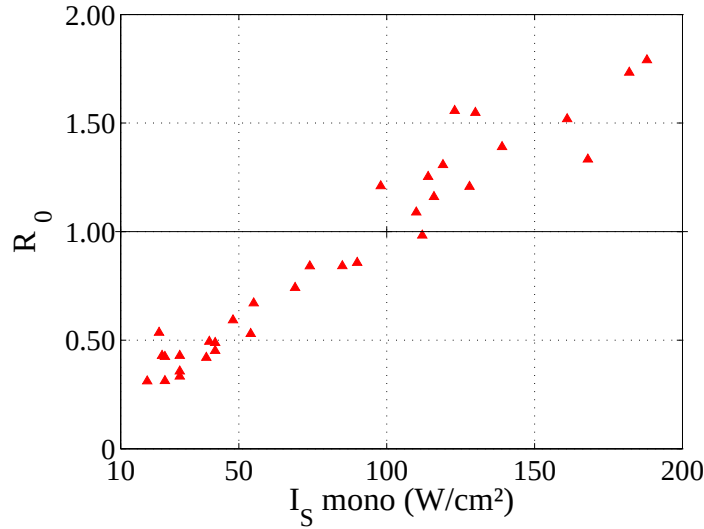


FIG. 3.4 – Rapport des seuils mono- et bi-fréquentiel $R_0 = \frac{I_{S \text{ mono}}}{I_{S \text{ bi}}}$ en fonction du seuil de cavitation monofréquentiel $I_{S \text{ mono}}$.

lorsque l'intensité nominale est supérieure à 100 W/cm^2 et inférieure à 1 sinon.

Le fait que le rapport des seuils R_0 soit corrélé au seuil monofréquentiel $I_{S \text{ mono}}$ montre que la dépendance du seuil de cavitation inertielle vis-à-vis du type d'excitation utilisée résulte essentiellement de l'intensité nominale requise pour initier la cavitation. Cet argument exclut tout mécanisme linéaire tel que le premier décrit dans les hypothèses présentées plus-haut.

La combinaison non linéaire des deux composantes fréquentielles voisines f_1 et f_2 est un mécanisme possible puisqu'elle est à l'origine d'une composante à la fréquence différence $\Delta f = |f_1 - f_2| \ll f_1$ dont l'intensité est maximale dans la zone focale des faisceaux primaires. De plus, pour des intensités suffisantes, la combinaison non linéaire des fréquences primaires devient significative, et des pics à $\Delta f, 2\Delta f, \dots, n\Delta f$ apparaissent dans le spectre. Ceci correspond, au niveau de la cible, à une excitation multifréquentielle, mettant en jeu plusieurs hautes fréquences ($f_1, f_2, nf_1 \dots$) et plusieurs basses fréquences ($\Delta f, n\Delta f \dots$). Cette excitation multifréquentielle permet manifestement d'abaisser le seuil de cavitation en offrant, par exemple, un spectre d'excitation plus large, excitant de manière optimale une plus grande population de germes de cavitation de tailles différentes.

Lorsque de fortes intensités sont requises pour initier la cavitation sur la cible, les combinaisons non linéaires des fréquences f_1 et f_2 permettent donc de reproduire *localement* la superposition d'une basse fréquence et d'une haute fréquence qui a pour effet d'abaisser le seuil de cavitation. Dans le cas contraire, les amplitudes sont trop faibles et les résultats montrent que la modulation elle-même rend le

déclenchement de la cavitation plus difficile, à cause de la faible portion du temps pendant laquelle les niveaux de pression les plus faibles sont maintenus.

Comme cela a été mentionné dans le chapitre 1 (§1.4), les non-linéarités générant la composante basse fréquence Δf peuvent être issues de deux processus différents : les non-linéarités propagatives dans le milieu, ou la modulation de la force de radiation sur un objet réfléchissant au foyer. Certains éléments des résultats du chapitre 4 iront dans le sens de ce dernier mécanisme.

3.4 Activité de cavitation au-delà du seuil

Le signal bifréquentiel n'abaisse le seuil de cavitation inertielle qu'à partir d'un certain niveau de puissance. En ce qui concerne l'évolution de l'activité de cavitation au delà du seuil, les choses semblent différentes. Sur la figure 3.1, on remarque que l'augmentation de l'activité de cavitation au-delà du seuil en fonction de l'intensité ultrasonore est plus rapide dans le cas bifréquentiel que dans le cas monofréquentiel. Et ce phénomène est observé même lorsque le seuil bifréquentiel est plus élevé que le seuil monofréquentiel, comme le montrent les courbes de la figure 3.5 où sont tracées les activités de cavitation en fonction de l'intensité pour différents taux d'oxygène dissout. A gauche, les courbes correspondent

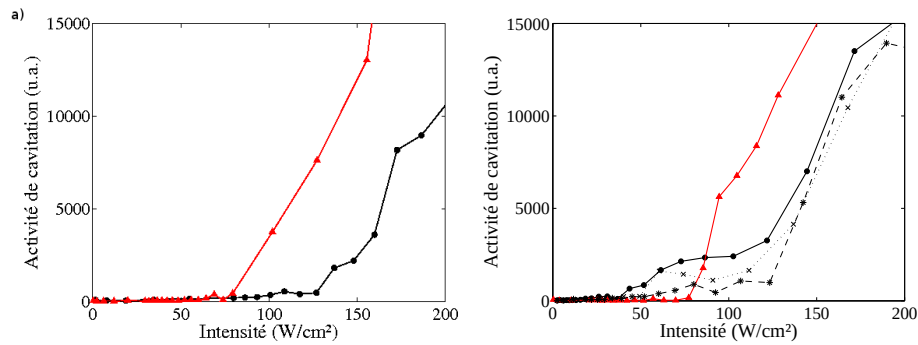


FIG. 3.5 – Évolution de l'activité de cavitation au-delà du seuil pour les excitations mono- (ronds, croix et étoiles noirs) et bi-fréquentielle (triangles rouges). a) concentration en oxygène : $2,5 \text{ mg.l}^{-1}$ ($R_0 > 1$). b) concentration en oxygène : $3,4 \text{ mg.l}^{-1}$ ($R_0 < 1$).

à des mesures réalisées avec un taux d'oxygène de $2,5 \text{ mg.l}^{-1}$ ($R_0 > 1$), à droite $3,4 \text{ mg.l}^{-1}$ ($R_0 < 1$). Même quand le rapport des seuils est inférieur à 1, le signal bifréquentiel atteint une forte activité de cavitation avec une intensité plus faible que le monofréquentiel. Sur la courbe de droite, pour une intensité 2 fois supérieure au seuil bifréquentiel I_{Sbi} , et donc 3,5 fois supérieure à I_{Smono} , l'activité de cavitation bifréquentielle est 2 fois plus élevée que l'activité de cavitation monofréquentielle.



Ce point peut s'expliquer par le fait qu'une fois la cavitation inertielle initiée, la présence de bulles augmente la non-linéarité du milieu, et les combinaisons non linéaires deviennent plus importantes, ce qui augmente l'aspect multifréquentiel de l'excitation.

La figure 3.5 de droite illustre un autre aspect concernant les différences d'évolution de l'activité de cavitation au-delà du seuil. Plusieurs évolutions de l'activité de cavitation en fonction de l'intensité pour une excitation monofréquentielle sont tracées. Elles correspondent toutes à des mesures effectuées à un même taux d'oxygène mais exhibent des comportements différents. Pour les trois réalisations, le seuil est identique (reproductibilité des résultats sur le seuil), mais on distingue 2 régions différentes au delà du seuil :

- au-delà de 120 W/cm^2 , l'évolution de l'activité de cavitation est plus rapide. On observe une bonne reproductibilité.
- entre le seuil et 120 W/cm^2 , l'activité de cavitation augmente lentement et reste faible. La reproductibilité dans cette région est plus faible.

Cette légère variabilité est à l'origine de la dispersion sur le seuil que l'on a pu observer sur les figures 3.2 et 3.3. Pour de faibles taux de gaz dissout, la nucléation devient plus aléatoire. Le tir d'*initialisation* laisse très peu de germes, et l'on passe donc tout de suite de germes microscopiques à de la cavitation inertielle. En effet, les spectres des signaux obtenus pour des tirs inférieurs au seuil ne présentent jamais de pic à $f_0/2$: les bulles n'oscillent donc pas avant l'implosion. Ces bulles sont donc très dépendantes des germes présents. L'aspect aléatoire de la nucléation se traduit par cette variabilité observée à faible taux d'oxygène en monofréquentiel.

D'après ce qui vient d'être présenté sur l'évolution de l'activité de cavitation au-delà du seuil, l'étude du comportement au seuil des deux types d'excitations ne suffit pas pour caractériser les effets d'une excitation bifréquentielle sur l'activité de cavitation. De plus, dans le cadre d'une application à la thrombolyse, les effets recherchés sont d'augmenter l'activité de cavitation tout en limitant la puissance. Nous allons donc, maintenant, examiner les effets des deux excitations pour des fortes activités de cavitation. Dans le chapitre précédent, nous avons défini des indicateurs correspondant à une activité de cavitation de 5000 u.a. Une telle valeur est choisie, car elle correspond à une forte activité de cavitation tout en étant atteinte dans chacune des expériences présentées ici.

Afin d'étudier l'efficacité relative des deux excitations à une forte activité de cavitation inertielle en comparaison de celle au niveau du seuil, les intensités $I_{5000 \text{ mono}}$ et $I_{5000 \text{ bi}}$ sont tracées en fonction de la concentration en oxygène dissout (figure 3.6). Elles correspondent aux intensités nécessaires pour atteindre une activité de cavitation de 5000 u.a. pour des excitations mono- et bi-fréquentielle. Nous rappelons que ces intensités ($I_{5000 \text{ mono}}$ et $I_{5000 \text{ bi}}$) sont obtenues par régression linéaire entre les points de mesures les plus proches de 5000 u.a. (cf §2.4.3.3). Les barres d'erreurs de la figure 3.6 représentent les incertitudes sur le calcul de ces valeurs $I_{5000 \text{ mono}}$ et $I_{5000 \text{ bi}}$.

Pour une excitation monofréquentielle, l'intensité $I_{5000 \text{ mono}}$ décroît de 170 W/cm^2 pour un taux d'oxygène, de $1,7 \text{ mg.l}^{-1}$ à 70 W/cm^2 pour $5,0 \text{ mg.l}^{-1}$.

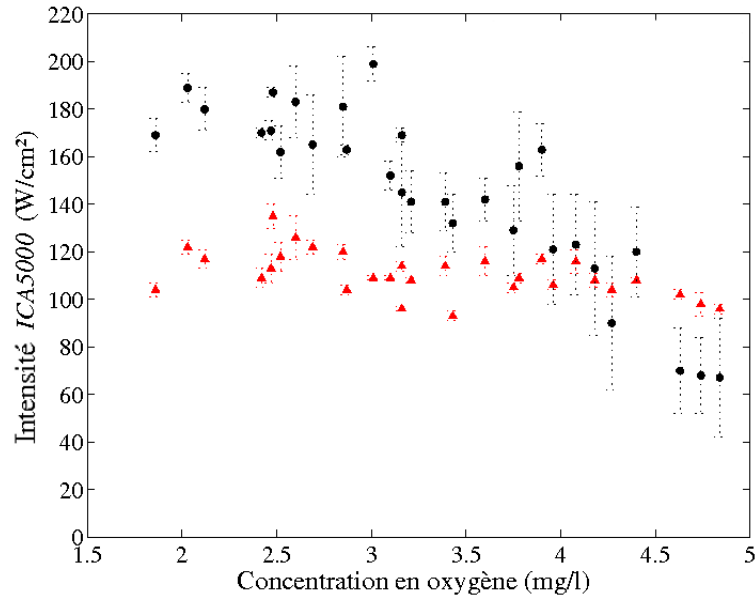


FIG. 3.6 – Évolution des intensités nécessaires pour atteindre une activité de 5000 u.a. : $I_{5000\ mono}$ (ronds noirs) et $I_{5000\ bi}$ (triangles rouges) en fonction de la concentration en oxygène dissout.

En revanche, la forte dispersion observée sur le seuil monofréquentiel (figure 3.2) en-dessous de $3,5\text{ mg.l}^{-1}$ n'est pas présente sur la courbe de l'évolution de $I_{5000\ mono}$.

L'intensité $I_{5000\ bi}$ est à peu près constante ($110 \pm 10\text{ W/cm}^2$) quelle que soit la valeur du taux d'oxygène et présente une faible dispersion. Pour des taux de gaz dissout élevés ($\simeq 4\text{ mg.l}^{-1}$), l'intensité nécessaire pour avoir une activité de cavitation de 5000 u.a. ($I_{5000\ bi}$) est seulement 10% à 20% supérieure à l'intensité nécessaire à l'initiation de la cavitation inertielle ($I_{S\ bi}$). D'une part, ceci traduit une évolution très abrupte de l'activité de cavitation au delà du seuil dans le cas d'une excitation bifréquentielle. D'autre part, l'intensité nécessaire à atteindre une activité fixée de cavitation ne dépend pas du taux de gaz dissout.

Ce phénomène peut s'expliquer par l'apparition des non-linéarités aux fortes intensités ultrasonores. En effet, quand on augmente l'intensité, les non-linéarités se développent indépendamment du taux d'oxygène dissout et, dès qu'elles deviennent significatives, la cavitation inertielle apparaît. Par conséquent, l'apparition de cavitation inertielle avec un signal bifréquentiel est gouvernée par l'apparition des non-linéarités et ne dépend donc que marginalement du taux de gaz dissout. Ce phénomène est même observé pour de faibles activités de cavitation, dans la mesure où le processus non linéaire se manifeste : en effet, le seuil de cavitation bifréquentiel (cf figure 3.2) est constant jusqu'à des concentrations de 4 mg.l^{-1} , valeur au-delà de laquelle la cavitation parvient à s'initier sans l'aide des non-



linéarités. Ce point correspond à une intensité d'environ 100 W/cm^2 sur la figure 3.2, et correspondrait donc au point à partir duquel la non-linéarité joue un rôle prépondérant dans le déclenchement de la cavitation.

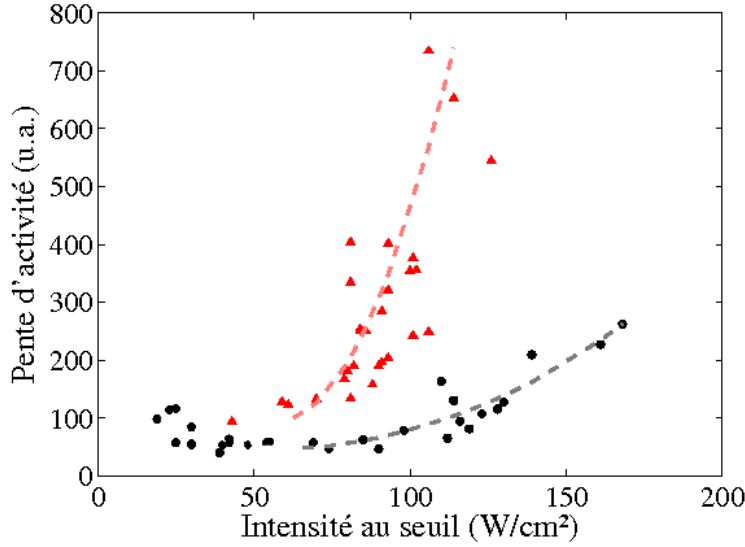


FIG. 3.7 – Pentes d'activité au-delà du seuil en fonction du seuil pour les excitations monofréquentielle (ronds noirs) et bifréquentielle (triangles rouges).

Sur la figure 3.7, les pentes monofréquentielles (p_{mono}) et bifréquentielles (p_{bi}) sont tracées en fonction des valeurs des intensités de seuil correspondantes. La pente p_{bi} est toujours au-dessus de la pente p_{mono} . Si l'on excepte les mesures aux plus forts taux d'oxygène dissout, la pente de la courbe d'activité de cavitation entre le seuil et 5000 u.a. est une fonction croissante de l'intensité au seuil I_S . Ce qui veut dire que plus l'intensité nécessaire à faire caviter est élevée (I_S grand) plus la pente va être importante. La raideur de la pente *compense le retard* pris sur le seuil pour atteindre une forte activité de cavitation (5000 u.a.) à la même intensité.

Le comportement relatif des intensités à forte activité de cavitation étant différent de celui au niveaux des intensités de seuil, on trace maintenant le rapport $R_{5000} = I_{5000 \text{ mono}} / I_{5000 \text{ bi}}$ en fonction de la concentration en oxygène dissout dans l'eau (figure 3.8). Contrairement au rapport des seuils R_0 présenté sur la figure 3.3, le rapport R_{5000} est presque toujours supérieur à 1. La croissance très forte de l'évolution de l'activité de cavitation au-delà du seuil rend l'excitation bifréquentielle *intéressante* par rapport à l'excitation monofréquentielle, même quand R_0 est inférieur à 1. En effet, les intensités sont un peu plus élevées et la présence de bulles augmente la non-linéarité du milieu de manière importante. L'excitation bifréquentielle permet donc d'obtenir une séparation plus franche et donc plus précise entre les régimes cavitant et non cavitant.

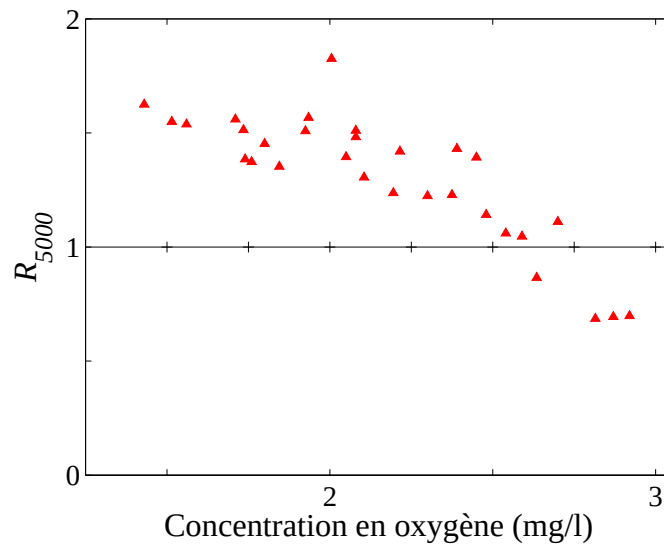


FIG. 3.8 – Rapport des intensités $I_{5000\ mono}$ et $I_{5000\ bi}$: $R_{5000} = \frac{I_{5000\ mono}}{I_{5000\ bi}}$ en fonction de la concentration en oxygène dissout dans l'eau.

3.5 Évaluation de la zone potentielle de cavitation

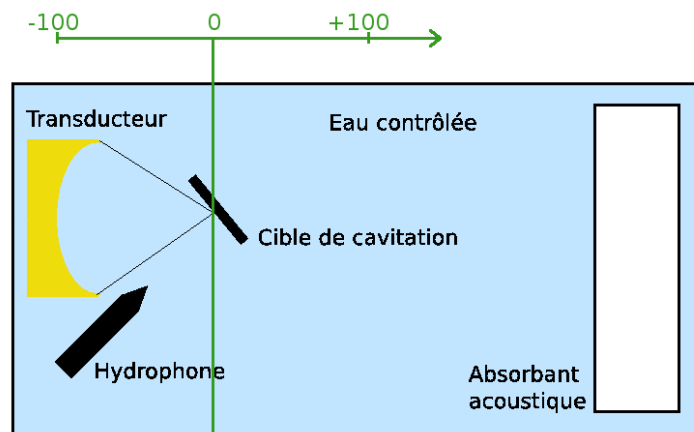


FIG. 3.9 – Orientation et origine de l'axe selon lequel la cible est déplacée.

Les résultats présentés dans les paragraphes précédents montrent qu'une excitation bifréquentielle peut abaisser les seuils de cavitation par rapport à une ex-



citation monofréquentielle. Dans cette section, nous nous intéressons à la zone sur laquelle la présence d'une cible est susceptible d'initier la cavitation pour une puissance émise donnée. Ces mesures permettront de déterminer la sélectivité spatiale des modifications de seuil occasionnées par l'excitation bifréquentielle. Afin de comparer l'étendue de cette zone potentielle de cavitation pour les deux types d'excitations, des mesures ont été réalisées en déplaçant la cible le long de l'axe acoustique. Les mesures consistent à faire une montée en tension comme pour les mesures de seuils mais sur seulement quatre intensités choisies à partir et au-delà de l'intensité de seuil au foyer pour les deux types d'excitations : 180 W/cm^2 , 260 W/cm^2 , 305 W/cm^2 et 354 W/cm^2 . On réalise 5 tirs pour chaque intensité afin d'avoir une idée de la variabilité des mesures. La cible est déplacée le long de l'axe acoustique, comme le montre la figure 3.9. L'origine est placée au maximum de pression mesurée lors des mesures de champ, c'est-à-dire la position pour laquelle toutes les mesures présentées précédemment ont été réalisées. Pour chaque position, la cible est toujours inclinée d'environ 40° et l'hydrophone *RESON* est positionné de façon à être toujours à proximité de la cible de cavitation, mais hors du faisceau du transducteur.

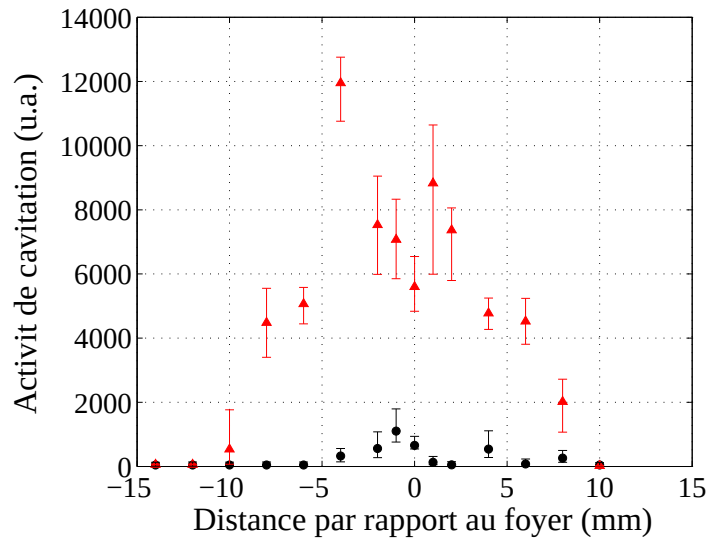


FIG. 3.10 – Activité de cavitation pour une excitation mono- (ronds noirs) et bi-fréquentielle (triangles rouges) en fonction de la position de la cible aux alentours du foyer le long de l'axe acoustique pour une intensité de 354 W/cm^2 . Les barres d'erreurs montrent le minimum et le maximum obtenus pour chaque série de 5 tirs.

Pour chaque intensité, le niveau d'activité de cavitation est tracé en fonction de la position de la cible. Les résultats obtenus pour une intensité de 354 W/cm^2 sont tracés sur la figure 3.10. Pour l'ensemble de ces expériences le seuil bifréquentiel

est d'environ $I_{Sbi} = 200 \text{ W/cm}^2$ et, comme attendu, l'activité de cavitation bifréquentielle est toujours supérieure à l'activité monofréquentielle à intensité égale. Pour chacun des types d'excitations, on peut définir une zone de cavitation. À cette intensité de 354 W/cm^2 , en bifréquentiel, on observe une activité de cavitation lorsque la cible se trouve dans une zone allant de -10 mm à $+8 \text{ mm}$ de part et d'autre du foyer. En monofréquentiel, l'activité de cavitation s'étend, pour cette même intensité, de -4 mm à $+4 \text{ mm}$.

Sur la figure 3.10, la zone de cavitation s'étend d'environ 9 mm de part et d'autre du foyer. Sur la courbe du champ acoustique tracée selon l'axe z (figure 2.7), le point se trouvant 9 mm en amont du foyer correspond à une pression égale à $0,75$ fois la pression au foyer (P_{max}). Ce facteur $0,75$ correspond sensiblement à $\sqrt{I_{Sbi}/I_{fig. 3.10}} = \sqrt{200/354}$, ce qui correspond donc environ à un seuil bifréquentiel de 200 W/cm^2 , compatible avec les mesures obtenues à cette puissance. Ces résultats tendent à confirmer l'hypothèse d'un effet bien localisé : la zone de cavitation est gouvernée par la forme du champ primaire.

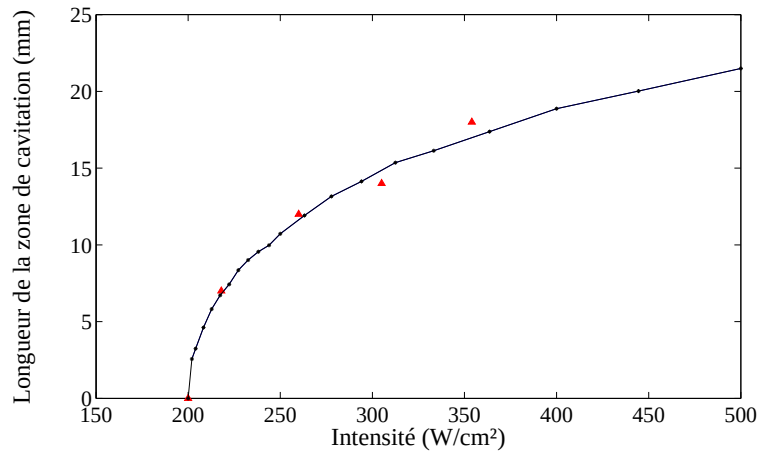


FIG. 3.11 – Longueur de la zone de cavitation selon l'axe acoustique en fonction de l'intensité acoustique au foyer pour une excitation bifréquentielle (triangles rouges). La courbe noire correspond à la longueur de la zone pour laquelle le champ acoustique (cf figure 2.7) dépasse l'intensité de seuil (200 W/cm^2) pour une intensité donnée.

La figure 3.11 présente les résultats obtenus pour les différentes intensités dans le cas d'une excitation bifréquentielle. Il est également tracé sur cette figure la longueur de la zone pour laquelle le champ acoustique dépasse l'intensité de seuil (200 W/cm^2) pour une intensité donnée. On observe bien que pour toutes les intensités il y a une correspondance entre la taille de la zone focale et la taille de la zone potentielle de cavitation.

À titre d'illustration, on trace sur la figure 3.12, l'activité de cavitation en fonc-



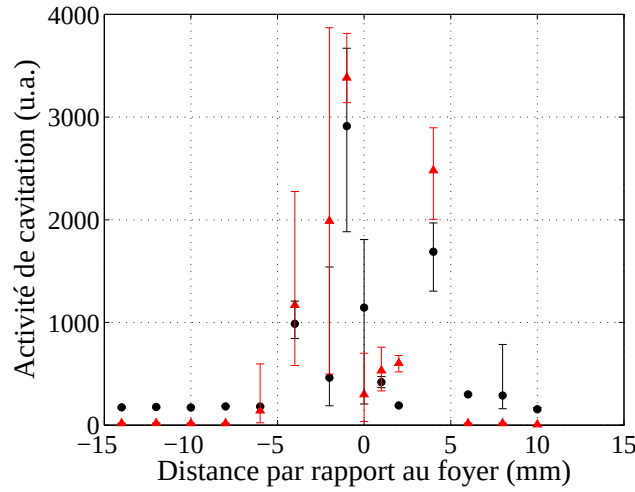


FIG. 3.12 – Activité de cavitation moyenne (sur 5 tirs) en fonction de la position de la cible le long de l'axe acoustique, le foyer étant l'origine. En noir pour une excitation monofréquentielle à 260 W/cm^2 , en rouge pour une excitation bifréquentielle à 180 W/cm^2 . Les barres d'erreurs montrent le minimum et le maximum obtenus pour chaque série de 5 tirs.

tion de la position de la cible pour une excitation monofréquentielle délivrée à 260 W/cm^2 et une excitation bifréquentielle délivrée à 180 W/cm^2 , ces intensités permettant d'obtenir le même niveau d'activité avec les deux signaux. À activité de cavitation donnée, l'étendue de la zone potentielle de cavitation est identique pour les deux types d'excitations.

3.6 Influence de l'écart en fréquence Δf

L'exploitation des résultats obtenus sur les mesures réalisées avec différents taux d'oxygène ont indiqué que l'abaissement du seuil de cavitation inertielle par l'utilisation d'un signal bifréquentiel serait dû à l'aspect multifréquentiel engendré par les non-linéarités au foyer. La composante basse fréquence égale à la fréquence différence Δf , ainsi que les composantes $n\Delta f$ (n entier) pourrait être plus particulièrement impliquées. Par conséquent des mesures visant à étudier l'influence de cet écart en fréquence ont été réalisées. Pour cela, différentes valeurs de Δf , comprises entre 5 kHz et 90 kHz ont été testées.

Toutes les expériences ont été réalisées dans les mêmes conditions de température et de concentration en oxygène dissout. Les figures 3.13 et 3.14 présentent respectivement, en fonction de l'écart en fréquence Δf , le seuil bifréquentiel I_{Sbi} et l'évolution de la courbe d'activité. Cette dernière étant quantifiée grâce à l'indicateur p_{bi} (pente de l'activité de cavitation pour une excitation bifréquentielle).

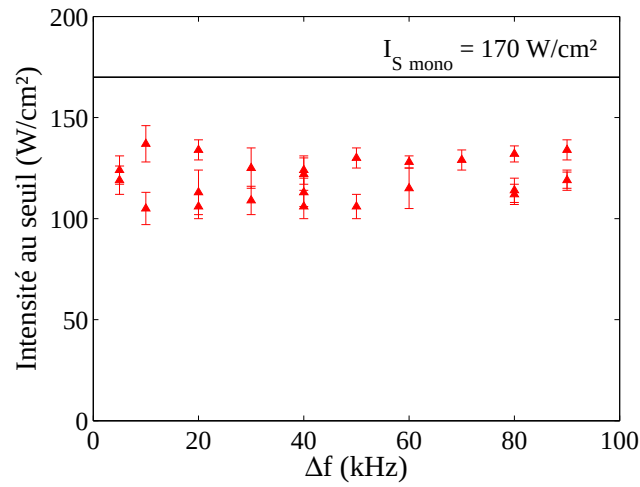


FIG. 3.13 – Seuils de cavitation en fonction de Δf pour des mesures dans des conditions expérimentales correspondant à un seuil nominal $I_{S \text{ mono}} = 170 \text{ W/cm}^2$. Les barres d'erreurs correspondent aux incertitudes de mesures de seuil comme elles ont été définies au chapitre précédent (cf §2.4.3.2).

Afin de s'assurer que les conditions expérimentales restent bien les mêmes, une

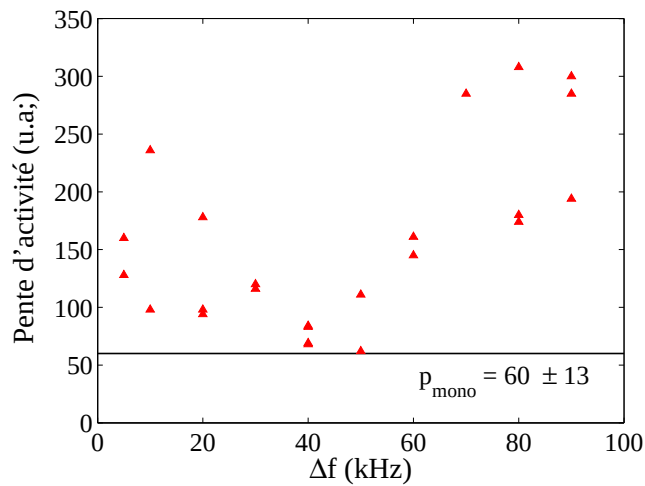


FIG. 3.14 – Pentes de l'activité au-delà du seuil en fonction de Δf . La pente monofréquentielle correspondante est $p_{\text{mono}} = 60 \pm 13$.

mesure monofréquentielle est réalisée pour chaque mesure bifréquentielle : on vérifie bien que toutes les mesures monofréquentielles fournissent la même va-



leur de seuil $I_{S\text{mono}} = 170 \text{ W/cm}^2$ et la même valeur de pente au-delà du seuil $p_{\text{mono}} = 60 \pm 13$. Les figures 3.13 et 3.14 présentent donc ces mesures bifréquentielles. Curieusement, concernant les seuils de cavitation (figure 3.13), aucune évolution significative du seuil en fonction de Δf n'est observée. Certes l'incertitude des mesures qui apparaît sur la figure peut masquer une certaine influence du paramètre Δf ; mais en tout état de cause, il n'y a pas d'influence prépondérante de Δf sur les seuils de cavitation.

En revanche, l'activité au-delà du seuil dépendrait significativement de la valeur de Δf , comme le montre la figure 3.14, sur laquelle est tracée la pente de la courbe d'activité de cavitation juste au-delà du seuil p_{bi} en fonction de Δf . La pente p_{bi} est toujours supérieure à la pente en excitation monofréquentielle, mais elle présente un minimum à la valeur p_{mono} au voisinage de $\Delta f = 40 \text{ kHz}$.

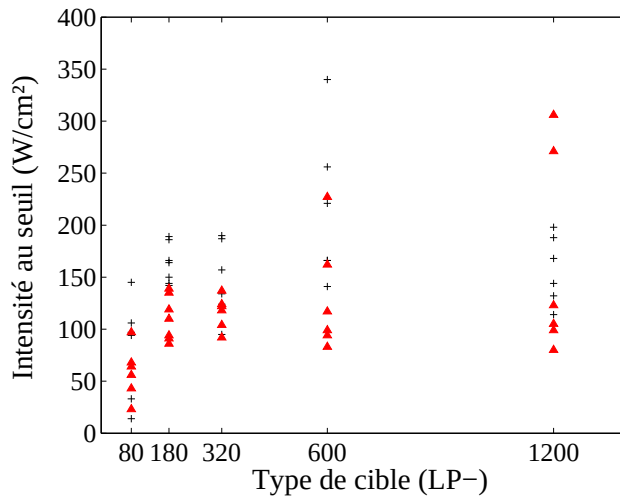


FIG. 3.15 – Influence de la granulométrie de la cible sur les seuils de cavitation pour des excitations mono- (croix noires) et bi-fréquentielle (triangles rouges).

Cette fréquence particulière peut être liée aux longueurs caractéristiques du problème, c'est-à-dire les dimensions des grains de la cible utilisée. Afin de mieux comprendre la dépendance de p_{bi} vis-à-vis de la fréquence différence Δf , des mesures supplémentaires ont donc été réalisées sur des cibles de granulométries différentes. Sur la figure 3.15 les seuils mono- et bi-fréquentiel sont tracés en fonction des différentes cibles. La figure 3.16 présente les rapports R_0 et R_{5000} pour chaque couple de mesure. Les résultats présentent de fortes fluctuations sur la dispersion des mesures selon le type de papier métallographique utilisé, mais on n'observe aucune évolution significative des rapports R_0 et R_{5000} alors que la taille moyenne des grains est multipliée par un facteur 13 entre la cible LP1200 et la cible LP80. Ces résultats suggèrent que pour les gammes de paramètre étudiées l'effet du Δf sur les pentes n'est pas lié aux longueurs caractéristiques de la cible.

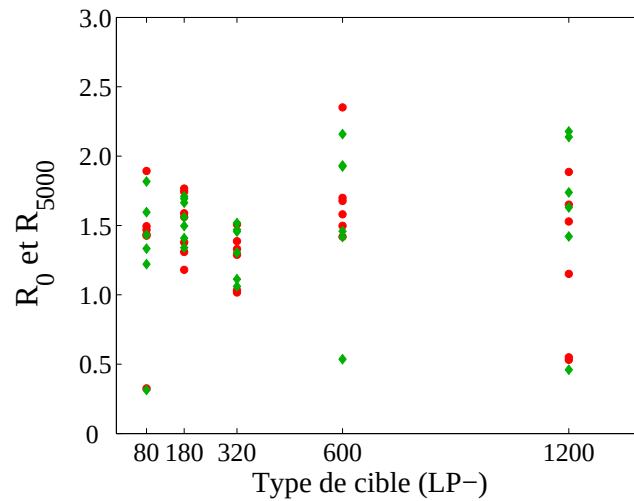


FIG. 3.16 – Influence de la granulométrie de la cible sur les rapports R_0 (ronds rouges) et R_{5000} (losanges verts).

3.7 Bilan des essais sur cible

L'utilisation d'une excitation bifréquente, constituée de deux hautes fréquence proches, permet de modifier les seuils de cavitation inertielle par rapport à une excitation monofréquente. Selon les cas, cette modification peut être soit une augmentation soit une diminution. Nous avons montré qu'elle est directement liée à la valeur de l'intensité nominale, c'est-à-dire à l'intensité monofréquente. Cet argument démontre que les mécanismes impliqués dans la modification du seuil par le signal bifréquentiel sont des mécanismes non linéaires. À partir d'une certaine puissance, les non-linéarités génèrent une basse fréquence égale à la fréquence différence $\Delta f = f_2 - f_1$ et ses harmoniques qui faciliteraient l'apparition de la cavitation inertielle. En-dessous de cette puissance, les seuils bifréquents sont supérieurs aux seuils monofréquents. Dans le sang les seuils de cavitation sont plus élevés ; ces résultats sont donc très intéressants du point de vue d'une application à la thrombolyse purement ultrasonore, puisqu'ils suggèrent qu'il serait possible d'initier de la cavitation inertielle avec de plus faibles puissances dans le sang.

Les essais de cavitation ultrasonore sur cible ont aussi montré que le signal bifréquentiel modifiait également l'activité de cavitation au-delà du seuil : l'excitation bifréquente permet d'atteindre des niveaux d'activité de cavitation importants pour des intensités plus proches du seuil par rapport à une excitation monofréquente. L'évolution de l'activité de cavitation en fonction de l'intensité acoustique au foyer indique que la pente de la courbe au-delà du seuil est plus rapide dans le cas bifréquentiel. Cela signifie une séparation plus franche entre les



régimes cavitant et non cavitant. Ceci permet d'appuyer encore l'idée qu'un signal bifréquentiel serait intéressant pour une application à la thrombolyse, puisqu'avec un tel signal on atteint de forts niveaux de cavitation à de plus faibles intensités et qu'une meilleure séparation entre les régimes cavitant et non cavitant permet de réduire les marges de sécurité sur le niveau d'excitation.

L'étude sur la taille de la zone potentielle de cavitation a montré que le signal bifréquentiel ne dégrade pas la sélectivité spatiale du champ ultrasonore, et par conséquent, que les propriétés de localisation de l'excitation bifréquentielle restent celles du champ primaire. Ces résultats apportent encore un point fort à l'utilisation d'un tel signal pour la thrombolyse ultrasonore.

Chapitre 4

Sonolyse de Caillots Sanguins In Vitro

Les résultats présentés dans le chapitre précédent montrent de nombreux avantages potentiels d'une excitation bifréquentielle, qui pourraient être exploités lors d'une application à la thrombolyse purement ultrasonore. Afin de pouvoir transposer ces résultats obtenus sur cible de cavitation à une application à la thrombolyse, des essais de sonolyse de caillots sanguins in vitro ont donc été réalisés.

4.1 Adaptation du dispositif expérimental

Le dispositif expérimental présenté au chapitre 2 a été adapté afin de répondre aux critères de sécurité d'utilisation d'échantillons issus du corps humain. La cible est remplacée par l'échantillon de sang coagulé à lyser. Les résultats présentés dans ce chapitre sont des essais préliminaires de thrombolyse purement ultrasonore. Nous nous focalisons uniquement sur la perte de poids du caillot après insonification et le dispositif d'écoute passive de l'activité de cavitation n'a pas été mis en oeuvre, même s'il sera possible, par la suite, de le faire pour écouter le bruit de cavitation pendant les essais de thrombolyse. Ce dispositif est présenté sur la figure 4.1.

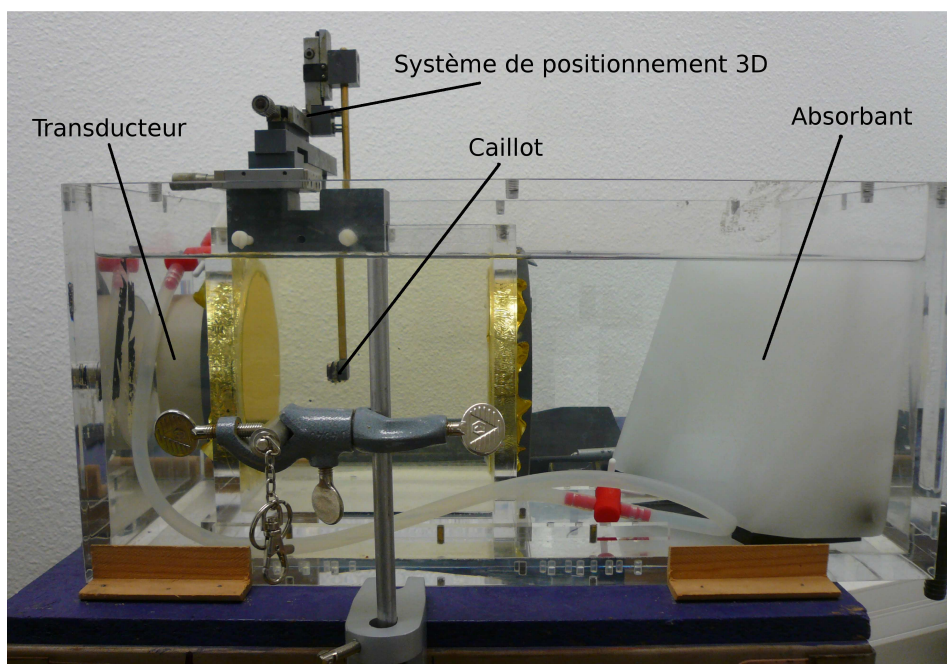


FIG. 4.1 – Dispositif expérimental des essais de thrombolyse ultrasonore.

4.1.1 Le dispositif de maintien du caillot

Le dispositif de maintien du caillot doit, d'une part positionner ce dernier au foyer, d'autre part permettre de récupérer les résidus issus de la thrombolyse. On place le caillot dans un tube dont le diamètre est supérieur à celui du volume focal à -3 dB pour éviter toute réflexion sur les parois latérales. Le tube est fermé à chaque extrémité, de manière étanche, par un morceau de préservatif d'épaisseur 10 microns transparent aux ultrasons. Les résidus de thrombolyse peuvent ainsi être récupérés en filtrant le contenu de la nacelle après tir (cf §4.2.4). Les photos de la figure 4.2 montrent un exemple de caillots placés dans ces nacelles, et une nacelle sur son support au foyer. Le positionnement au foyer se fait à l'aide de trois platines de translation et d'un laser. Des essais préliminaires ont permis de déterminer la position la plus efficace : la nacelle est placée de telle sorte que le foyer soit 2 mm en amont de la paroi arrière. Ce positionnement permet au nuage de cavitation de s'initier au niveau du caillot plutôt que sur la paroi avant ou arrière de la nacelle.

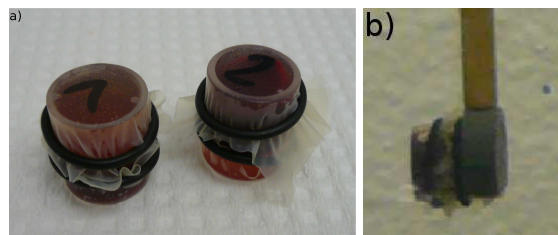


FIG. 4.2 – Photos du support de caillot : a) exemple de caillots dans leur nacelle et b) la nacelle sur son support au foyer du transducteur.

4.1.2 Les cuves

Tout ce qui a été potentiellement en contact avec du sang doit pouvoir être décontaminé selon un protocole précis incluant l'immersion des objets en question dans un bain de javel pendant 1 h. Ceci n'est pas envisageable pour le transducteur et l'absorbant acoustique. Une nouvelle cuve, spécifiquement dédiée aux essais de thrombolyse, a donc été conçue (figure 4.3). Elle se compose en fait de deux cuves, une cuve principale quasiment identique à celle présentée dans le chapitre 2 si ce n'est au niveau des dimensions ($520 \times 270 \times 230$ mm ($L \times l \times H$)), et une cuve plus petite ($200 \times 200 \times 215$ mm ($L \times l \times H$)) dans laquelle est immergée la nacelle contenant le caillot sanguin. Des précautions ont été prises afin d'éviter les réflexions dues aux parois de la mini-cuve : deux ouvertures circulaires de 150 mm de diamètre ont été percés à l'avant et à l'arrière de la cuve. Des films de polyester de 13 microns d'épaisseur sont étirés sur ces ouvertures et maintenus grâce à deux anneaux PVC, pour faire office de fenêtre acoustique. L'étanchéité est assurée par un joint de silicone.

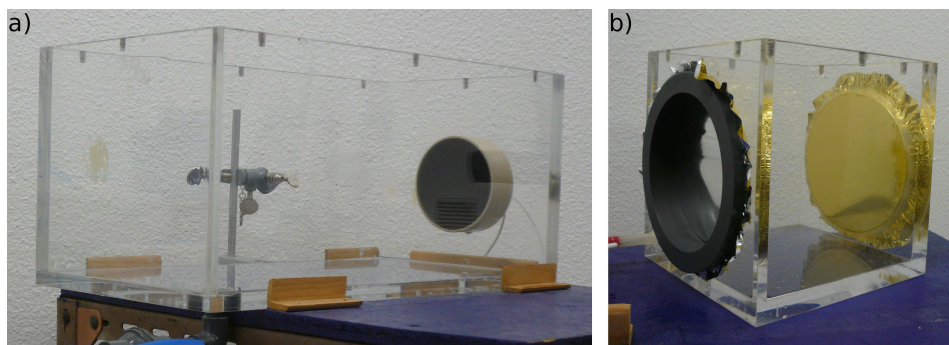


FIG. 4.3 – Cuves réalisées pour les essais de thrombolyse : a) la cuve externe et b) la cuve interne.

4.1.3 La solution *anti-cavitante*

Un point important, dans ces expériences, consiste à caviter à l'intérieur de la nacelle et non sur la paroi extérieure. Il faut donc que les seuils de cavitation du liquide de la mini-cuve soient supérieurs à ceux à l'intérieur de la nacelle. En effet, si la cavitation est plus facile à initier à l'extérieur de la nacelle, un nuage de bulle se développe en amont et écrante la nacelle, empêchant la cavitation de se développer dans la nacelle par manque d'énergie. Pour obtenir des seuils de cavitation élevés, une solution est d'utiliser de l'eau avec un très faible taux de gaz dissout (cf chapitre précédent). Cependant, le fait de devoir changer d'échantillon à chaque tir ne permet pas de maintenir la cuve fermée. Les essais pouvant durer plusieurs heures pour faire différents tirs sur une vingtaine de caillots, les gaz présents dans l'air se dissolvent dans l'eau et diminuent donc inévitablement les seuils de cavitation. Une autre solution est de remplir la cuve avec un liquide ayant les mêmes propriétés acoustiques que l'eau mais rendant plus difficile la cavitation. Un tel liquide est utilisé pour le refroidissement et le couplage de sonde à usage thérapeutique. Dans leur brevet [75] dédié à ce liquide, Blanc et Godo décrivent les différentes caractéristiques d'une solution de polyvinylpyrrolidone (PVP) et montrent que pour des concentrations allant de 10 g.l^{-1} à 50 g.l^{-1} (masse molaire = $58\,000 \text{ g.mol}^{-1}$) ils n'observent aucune activité de cavitation dans le ballon de refroidissement de la sonde utilisée à des puissances très élevées (thérapie par HIFU). Rajulu *et al* [76] et Rao *et al* [77] ont mesuré différents paramètres acoustiques d'une solution de PVP à différentes concentrations et températures. Le tableau 4.1 présente quelques uns de leurs résultats pour une solution de PVP concentrée à 50 g.l^{-1} à 30°C , les valeurs correspondantes pour l'eau sont aussi présentées. Les caractéristiques acoustiques de cette solution sont très proches de celles de l'eau et elle peut donc remplacer l'eau dans la mini-cuve sans défocaliser la source ni créer de réflexions aux interfaces.

Concentration C mol.l^{-1}	Viscosité η 10^{-3}Pa.s	Célérité v m.s^{-1}	Impédance acoustique Z 10^6Pa.s.m^{-1}
0,000000 (= eau)	0,8001	1590,6	1,503
0,000875 (= 50 g.l ⁻¹)	1,4190	1521,0	1,525

TAB. 4.1 – Valeurs de différents paramètres acoustiques pour une solution de PVP à 30 °C.

4.1.4 Les paramètres de tirs

Les expériences de destruction de caillot présentées ici consistent à comparer l'efficacité d'un signal bifréquentiel à celle d'un signal monofréquentiel. Les différents paramètres de tir seront toujours identiques dans les deux cas, afin de comparer leur efficacité thrombolytique. Les tirs consistent en des excitations pulsées de 27 ms avec un rapport cyclique de 10% pendant 5 min. Avant chaque séquence de tirs, monofréquentiel ou bifréquentiel, un tir d'*amorçage* est effectué pour initier la cavitation, le tir dure 18 ms et correspond à une intensité acoustique au foyer de 2200 W/cm².

4.2 Le modèle de caillot sanguin in vitro

Pour éviter tout risque de contamination biologique, le sang est récupéré après contrôle sérologique. Le sang est prélevé par l'Établissement Français du Sang (EFS), puis conditionné et stocké à +4 °C en attendant les résultats du contrôle sérologique. Si les tests s'avèrent négatifs la poche de sang peut être récupérée à des fins de recherche. Le sang est prélevé de la même façon que pour les poches à but thérapeutique c'est-à-dire par appel au don du sang de donateurs volontaires sains. La poche de sang, d'un volume compris entre 400 ml et 500 ml, contient, en plus du sang, 63 ml d'anticoagulant CPD (Citate Phosphate Dextrose). Pour faire coaguler le sang il faut donc lui ajouter un antidote à l'anticoagulant : du CaCl_2 (chlorure de calcium). Dans le chapitre 1 est expliqué qu'un thrombus est formé de *fibrine* activée sous l'action de la thrombine. Un thrombus naturel est formé de plaquettes, de globules rouges et de fibrine (cf §1.3.1), or les plaquettes contenues dans le sang ont une durée de vie très courte, alors que si le sang total est coagulé rapidement, on peut le conserver jusqu'à six jours à +4 °C. Le sang est donc coagulé dès réception, et ce sont les caillots qui sont conservés à +4 °C avant expérimentation. La thrombine a elle une durée de vie encore plus courte, inférieure au temps nécessaire pour effectuer les tests sérologiques ; il faut donc en rajouter au sang prélevé lors de la phase de coagulation pour obtenir un modèle de caillot sanguin s'apparentant à un thrombus naturel.

4.2.1 Préparation des différentes solutions

Différentes solutions sont nécessaires pour coaguler le sang in vitro :

- une solution antidote à l'anticoagulant : $CaCl_2$,
- une solution de thrombine,
- une solution d'albumine (l'utilité de celle-ci est expliquée plus loin).

Ces solutions sont préparées à l'avance dans des quantités plus importantes (solution mère) pour faciliter la manipulation, puis stockées dans les conditions adéquates pour chaque solution.

Les cellules étant très sensibles à l'eau (risque d'éclatement par osmose), il faut veiller à en ajouter le moins possible dans le sang, les solutions en poudre sont donc diluées avec du sérum physiologique, c'est à dire du chlorure de sodium ($NaCl$) à 0,9 %. Les quantités diluées sont calculées de manière à avoir un volume de solution de $NaCl$ totale à ajouter au sang inférieur à 5 % du volume total de sang à coaguler.

4.2.1.1 Solution mère d'albumine (SAB)

Les protéines ont tendance à s'agglutiner sur les parois ; dans notre processus de coagulation in vitro la thrombine doit être homogènement répartie dans le sang pour le faire coaguler. On rajoute donc une autre protéine, plus grosse, mais neutre, afin de bien répartir la thrombine dans le mélange. L'albumine utilisée est de l'albumine bovine déshydratée ; la solution mère est préparée pour avoir une concentration à 1 %. On prépare 10 ml de solution (0,1 g d'albumine bovine en poudre dans 10 ml de $NaCl$), stockée dans une bouteille hermétique à $+4^\circ C$.

4.2.1.2 Solution mère de thrombine

Comme il a été précisé plus haut, la thrombine a une durée de vie très courte. Afin de pouvoir la conserver, il faut qu'elle soit très concentrée (concentration supérieure à $0,5 \text{ mg.ml}^{-1}$) et congelée en dessous de $-20^\circ C$. La thrombine utilisée est de la thrombine humaine récupérée sous forme *sèche* par pot de 1 mg soit 100 UNIH. On dilue ce milligramme dans $100 \mu\text{l}$ de solution mère d'albumine, puis on sépare en $4 \times 25 \mu\text{l}$ dans des micro tubes (soit 25 UNIH par micro tube). Ces tubes sont conservés à $-25^\circ C$.

4.2.1.3 Solution mère de $CaCl_2$

Aux vues des concentrations du CPD (anticoagulant présent dans la poche), il faut ajouter 20 mM de $CaCl_2$. La masse molaire du $CaCl_2$ est $M_{CaCl_2} = 147,01 \text{ g.mol}^{-1}$. On prépare une solution mère de 50 ml à 500 mM (c.a.d. 3,67 g) dans du sérum physiologique.

4.2.2 Coagulation du sang total

Afin de rapprocher le plus possible les conditions expérimentales à la réalité, la coagulation se fait à 37°C ; le sang, les solutions utilisées ainsi que tout le matériel utilisé lors du processus de coagulation sont mis à incuber à 37°C . Selon les quantités utilisées, l'ajout de thrombine peut entraîner une coagulation immédiate du sang total, avant même d'avoir pu verser le mélange dans un contenant adéquat permettant la conservation du sang coagulé en attendant les tirs ultrasonores. Des essais préliminaires ont montré qu'en ajoutant $0,05 \text{ UNIH.ml}^{-1}$ le temps de coagulation, estimé à environ 40 s, était optimal pour pouvoir conditionner le mélange. On conditionne le sang coagulé dans des boîtes de Petri de 100 ml ($\varnothing 88 \text{ mm} \times 18 \text{ mm}$), il faut donc ajouter, pour 100 ml de sang, 4 ml de solution mère de CaCl_2 et $5 \mu\text{l}$ de solution mère de thrombine. Le pipetage de $5 \mu\text{l}$ étant très délicat, on dilue d'abord les $25 \mu\text{l}$ du micro tube (décongelé et pré-incubé à 37°C) dans 5 ml de sérum physiologique. Une fois agité, le mélange est pipeté dans une boîte de Petri en évitant toute bulle d'air puis fermé hermétiquement pour éviter l'oxydation du sang (voir figure 4.4). Les boîtes de Petri sont ensuite placées dans un incubateur à 37°C pendant 5 min, puis conservées à $+4^{\circ}\text{C}$ en attendant leur utilisation.

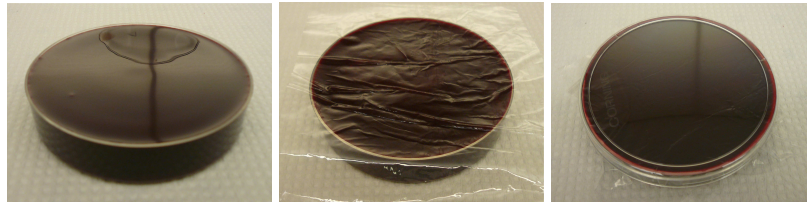


FIG. 4.4 – Fermeture hermétique des boîtes pour éviter l'oxydation lors de la coagulation du sang total.

4.2.3 Préparation des échantillons pour insonification

A partir d'une boîte de Petri remplie de sang coagulé, on extrait à l'emporte-pièce ($\varnothing 14 \text{ mm}$) des petits cylindres d'environ 10 mm de hauteur. Lorsque le sang total coagule, une partie du plasma contenu dans le sang est évacuée vers l'extérieur du réseau de fibrine. Il y a donc une couche de plasma liquide surnageant sur le sang coagulé ; ce plasma est prélevé à l'aide d'une seringue pour une utilisation ultérieure éventuelle (voir §4.3.2). Le caillot ainsi préparé a la forme d'un cylindre de $\varnothing 10 \text{ mm}$ sur une hauteur de 10 mm, comme on peut le voir sur la figure 4.5 ; il est placé dans la nacelle dont le volume est complété par du sérum physiologique ou du plasma sanguin selon les essais. La nacelle est ensuite fixée sur un support pour être immergée dans la cuve au voisinage du foyer du transducteur.



FIG. 4.5 – Photo de caillots après découpage et avant *mise en tube*.

4.2.4 Pesée des filtres, des caillots et des résidus

Les filtres

23 filtres ont été pesés, secs puis *rincés* au sérum physiologique pour évaluer l'incertitude sur la pesée des filtres mouillés. Pour peser un filtre, on le place sur un entonnoir Büchner lui-même placé sur une fiole à vide reliée à une pompe à vide (figure 4.6) ; la pompe mise en route, on *rince* 3 fois avec environ 3 ml de sérum physiologique puis on place le filtre entre 2 verres de montre. Sur les 23 filtres on obtient un poids moyen des filtres secs de 206, 0 mg avec un écart-type de 4, 3 mg, soit 2% : les filtres peuvent être considérés comme identiques. Le filtre étant rincé, puis *essoré* par aspiration, l'incertitude peut être importante sur la quantité de liquide restée sur le filtre. La campagne de mesures effectuée sur ces mêmes filtres mais rincés, *essorés* et pesés en suivant le protocole de pesée des filtres donne un poids moyen de 466, 7 mg avec un écart-type de 13, 6 mg, soit 3% sur les filtres rincés. Le poids moyen d'un caillot étant 800 mg l'incertitude sur la pesée du filtre est considérée comme négligeable.

Les caillots

L'efficacité thrombolytique des différents signaux d'excitation étant basée sur la perte de poids du caillot, ces derniers sont pesés avant insonification. Lors du découpage à l'emporte-pièce du caillot, des filaments de fibrine sont cassés libérant un peu des globules rouges et des plaquettes *emprisonnés* dans le réseaux de fibrine. Afin de ne peser que la partie *solide* du sang coagulé découpé, on rince le caillot plusieurs fois avec 3 ml de *NaCl*. On s'aperçoit que lors du premier rinçage, l'eau qui coule dans la fiole à vide à travers le filtre est colorée ; au fur et à mesure des rinçages elle devient de plus en plus claire pour devenir complètement limpide au 4^{ème} rinçage. Chaque caillot sera donc pesé après avoir été rincé 5 fois avec 3 ml de sérum physiologique. Une série de mesures de pesée a été menée et a permis de

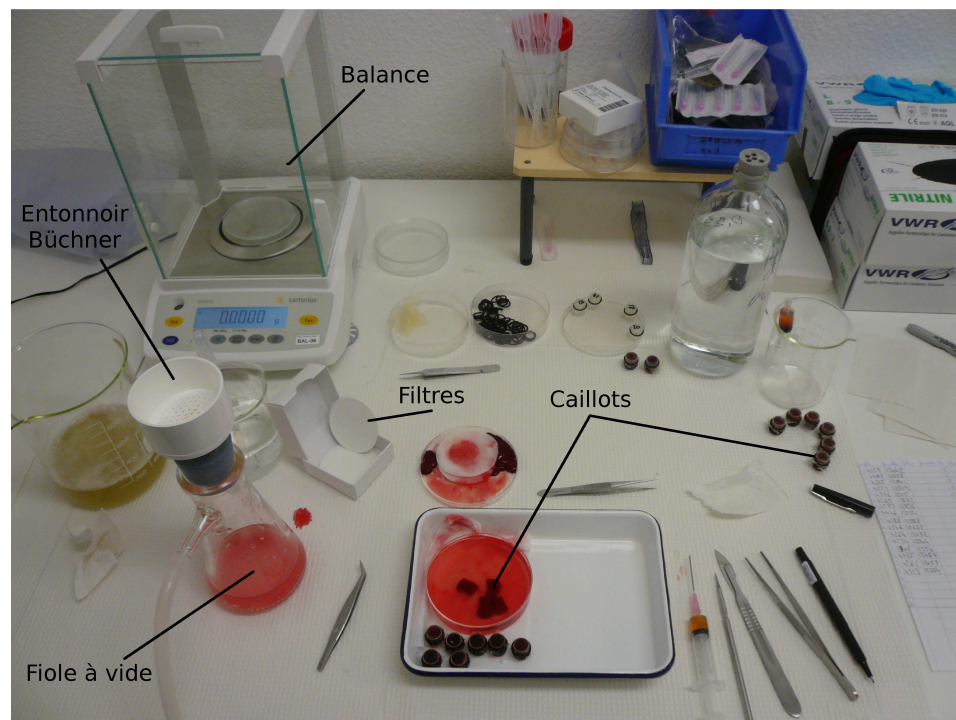


FIG. 4.6 – Schéma et photo de l'ensemble de pesée.

vérifier que même après de nombreux rinçages, le caillot ne perdait pas de poids une fois l'excédent de liquide retiré grâce au 5 premiers rinçages.

Les résidus

Après chaque tir, on pèse les résidus de thrombolyse sur un filtre de pores $25\ \mu\text{m}$ pour n'éliminer que les résidus assez petits pour ne pas obstruer la circulation y compris dans de petits capillaires. Après avoir pesé un filtre, on ouvre la nacelle au-dessus de ce dernier placé sur l'entonnoir Büchner puis on rince chaque élément : tube, morceaux de préservatif et joints toriques, pour être sûr de récupérer tous les résidus éventuels. Ce qui reste du caillot après insonification est ensuite rincé autant de fois que nécessaire pour éliminer tout résidu de taille inférieure à $25\ \mu\text{m}$ résultant de la lyse du caillot. Le nombre de rinçage n'est, cette fois, pas fixé. En effet, il dépend de l'état du caillot après traitement ultrasonore : si le caillot est entièrement lysé, un ou deux rinçages suffisent ; s'il est partiellement lysé, de nombreux rinçages sont nécessaires surtout s'il est percé ; s'il n'est pas du tout lysé, on rince 5 fois. Dans les deux premiers cas, le critère est la décoloration totale du filtrat.



Les différentes étapes de pesée des filtres, caillots et résidus sont résumées dans le schéma de la figure 4.7.

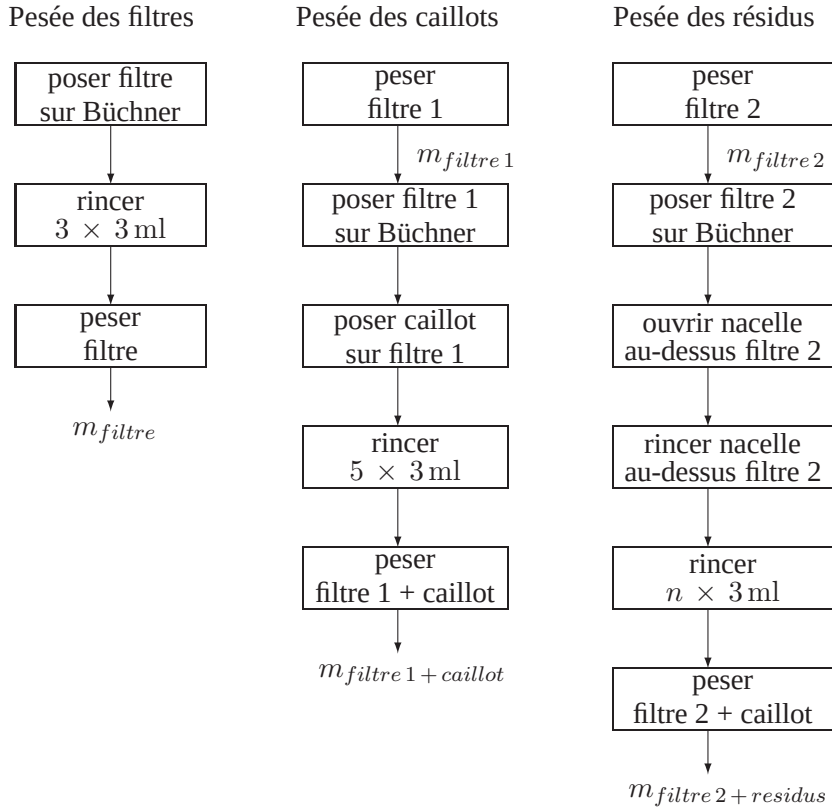


FIG. 4.7 – Étapes des différentes pesées.

4.2.5 Détermination de l'efficacité du tir

On obtient l'efficacité du tir en calculant le pourcentage de matière restante E_{th} :

$$E_{th} = \frac{m_{residus}}{m_{caillot}} \times 100$$

$$m_{residus} = m_{filtre\ 2 + residus} - m_{filtre\ 2} \quad m_{caillot} = m_{filtre\ 1 + caillot} - m_{filtre\ 1}$$

4.2.6 Déroulement des mesures

Afin d'avoir une approche statistique de l'efficacité thrombolytique du signal bifréquentiel, entre 5 et 7 essais de thrombolyse ont été effectués pour chaque type d'excitation et pour chaque intensité. Deux campagnes de mesures ont été réalisées, l'une utilisant des caillots immergés dans du sérum physiologique, l'autre des caillots immergés dans du plasma sanguin. Pour ce qui est des résultats présentés ici, le sang utilisé a été prélevé sur 8 personnes différentes (4 pour chaque

campagne) et la totalité des tirs s'est déroulée sur 20 jours (10 jours par campagne). Pour l'ensemble du jeu d'expériences réalisé dans du sérum physiologique, le poids moyen des caillots est de 724 ± 120 mg. Pour celui réalisé dans du plasma, il est de 838 ± 73 mg. Pour chaque série d'expérience réalisée un même jour, 2 ou 3 caillots suivaient le même protocole que tous les autres sans être insonifiés, afin de servir de témoin. Le pourcentage de thrombolyse observé sur les témoins correspond aux pertes de masse du caillot liées au fait d'avoir baigné dans le liquide d'immersion et aux manipulations des différentes étapes du protocole.

4.3 Résultats de sonolyse de caillots

Les résultats sont présentés sous forme d'histogramme sur les figures 4.8 à 4.10. La hauteur des barres représente l'efficacité thrombolytique en % et les barres d'erreurs l'écart-type de chaque réalisation. Le nombre inscrit au-dessus correspond au nombre d'échantillons testés pour chaque intensité. Pour les figures 4.8 et 4.9, les barres bleues correspondent à un tir monofréquentiel, les rouges à un bifréquentiel. Le trait gris représente la perte de poids moyenne des caillots témoins (12 %). Compte tenu des résultats obtenus sur les témoins, on considère que les tirs ultrasonores ont une influence thrombolytique pour des résultats supérieurs à 20 %.

4.3.1 Liquide d'immersion : sérum physiologique

Pour les tirs monofréquentiels, il n'y a pas ou très peu de thrombolyse pour des intensités inférieures à 1000 W/cm^2 , ensuite l'efficacité thrombolytique augmente régulièrement pour atteindre un maximum de $95 \% \pm 8 \%$ à 1500 W/cm^2 .

Le signal bifréquentiel a un effet thrombolytique dès 500 W/cm^2 et atteint un maximum de $91 \% \pm 10 \%$ pour une intensité $I_{sppa} = 900 \text{ W/cm}^2$. Après ce pic d'activité, l'efficacité thrombolytique de l'excitation bifréquentielle diminue et devient plus variable tout en restant supérieure à 70 %. Nous observons également qu'à des intensités de 800 W/cm^2 et 900 W/cm^2 , la quasi totalité du caillot est désagrégée avec la séquence de tirs bifréquentielle alors que l'on n'a aucun effet avec la séquence monofréquentielle. On peut exprimer ces résultats en termes d'intensités moyennées sur l'ensemble du signal d'émission (I_{spta} : *spatial peak time average*), unité classiquement utilisées en thérapie ultrasonore car plus directement reliée à l'échauffement moyen dans les tissus : on atteint 80 % de thrombolyse avec une intensité $I_{spta \text{ mono}} = 150 \text{ W/cm}^2$ en monofréquentiel contre $I_{spta \text{ bi}} = 80 \text{ W/cm}^2$ en bifréquentiel.

Par l'utilisation d'une excitation bifréquentielle on diminue donc environ par 2 la puissance nécessaire pour lyser 80 % d'un caillot de $1,5 \text{ cm}^3$ en 5 minutes et sans déplacer ce dernier. L'objectif de ces travaux étant d'obtenir une efficacité thrombolytique maximum avec une intensité minimum, le signal bifréquentiel s'avère être une piste prometteuse.

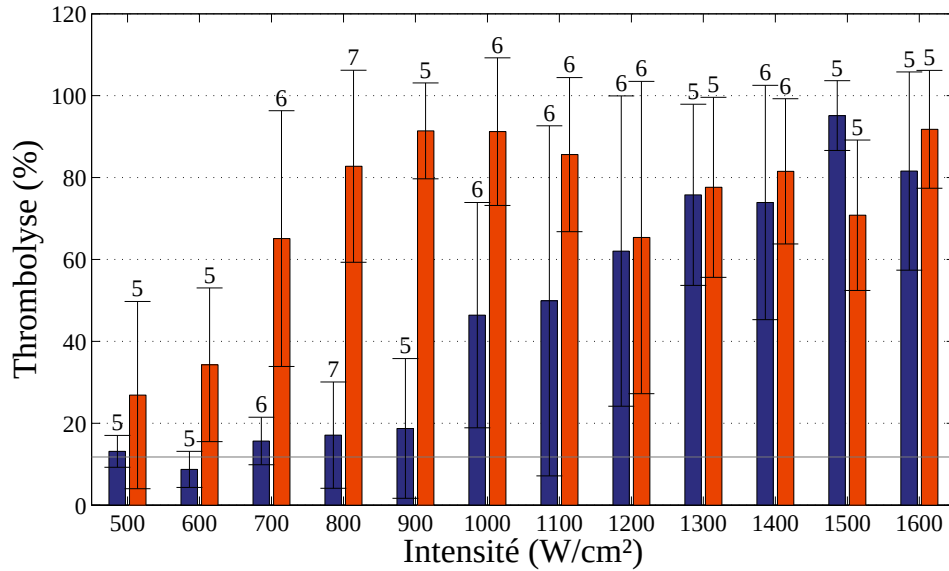


FIG. 4.8 – Comparaison de l'efficacité thrombolytique des deux types d'excitation pour différentes intensités (I_{sppa}) pour des caillots immergés dans du sérum physiologique. En bleu : un tir monofréquentiel ; en rouge : un tir bifréquentiel. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type et le nombre d'échantillons pour chaque réalisation est indiqué au-dessus de chaque barre. Le trait gris représente la perte de poids moyenne des témoins (non insonifiés).

4.3.2 Liquide d'immersion : plasma sanguin

Comme pour les essais dans du sérum physiologique, l'efficacité thrombolytique du signal bifréquentiel est plus importante que celle du signal monofréquentiel aux plus faibles intensités. On atteint un maximum d'efficacité de $86\% \pm 17\%$, dans le cas monofréquentiel, avec une intensité $I_{sppa\ mono} = 1200\text{ W/cm}^2$. Dans le cas bifréquentiel, il faut une intensité $I_{sppa\ bi} = 700\text{ W/cm}^2$ pour atteindre un maximum de $80\% \pm 17\%$.

En termes d'intensités I_{spta} : on atteint 60 % de thrombolyse avec des intensités $I_{spta\ mono} = 110\text{ W/cm}^2$ et de $I_{spta\ bi} = 60\text{ W/cm}^2$ avec des excitations mono- et bi-fréquentiel respectivement. Là encore, on diminue environ par 2 la puissance nécessaire pour lyser la même quantité de caillot avec un signal bifréquentiel.

4.4 Discussion

Pour les deux types de liquides utilisés, on constate qu'une fois atteint le maximum d'efficacité, si l'intensité est encore augmentée, cette efficacité est moins importante et significativement plus aléatoire. Deux hypothèses peuvent être amenées pour expliquer ce phénomène :

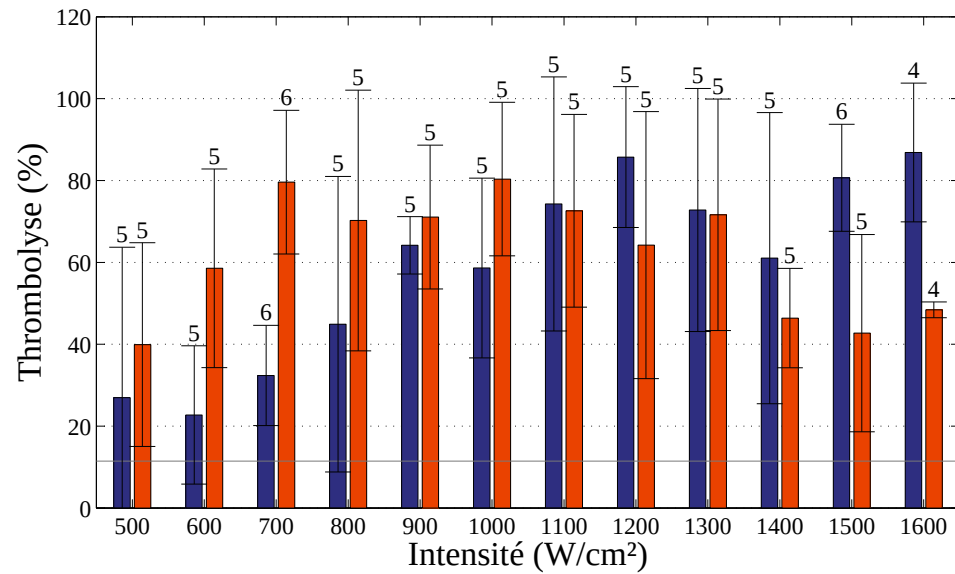


FIG. 4.9 – Comparaison de l'efficacité thrombolytique des deux types d'excitation pour différentes intensités (I_{sppa}) pour des caillots immergés dans du plasma sanguin. En bleu : un tir monofréquentiel ; en rouge : un tir bifréquentiel. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type et le nombre d'échantillons pour chaque réalisation est indiqué au-dessus de chaque barre. Le trait gris représente la perte de poids moyenne des témoins (non insonifiés).

- L'écrantage : à ces intensités, les bulles de cavitation produites à l'avant du caillot, à l'intérieur de la nacelle, peuvent écranter partiellement le signal, limitant ainsi de manière irrégulière l'efficacité de la thrombolyse.
- Le chauffage : les intensités atteignent un niveau entraînant une hausse de température telle qu'elle change les propriétés du caillot. Le sang coagulé par chauffage n'a pas la même texture qu'un caillot formé par action de la fibrine : le caillot est plus élastique et plus résistant. Lors des essais à fortes intensités, certains caillots insonifiés présentaient une différence de couleur et de texture laissant supposer que les températures induites par le champ ultrasonore avaient *cuit* le caillot.

Les résultats obtenus dans le plasma montrent une décroissance d'efficacité plus marquée que pour ceux obtenus dans le sérum physiologique. Le plasma étant plus visqueux, le caillot partiellement désagrégé ne bouge pas dans la nacelle, malgré les courants induits par l'onde acoustique. Les parties se situant à l'arrière du caillot, dans la nacelle, sont fortement pénalisées par l'écrantage. De plus, nous avons observé très peu d'effet de chauffage (aspect du caillot) durant les essais dans le plasma, ce qui est compatible avec l'hypothèse de l'écrantage qui atténue l'onde avant d'atteindre le caillot.

Sur la figure 4.10, les mêmes données sont présentées mais en comparant, pour une excitation bifréquentielle, l'efficacité thrombolytique en fonction du liquide d'immersion. Les barres bleu clair correspondent aux tirs dans du sérum physiologique, les orangées à ceux dans du plasma sanguin. Pour des intensités I_{sppa} de 500, 600 et 700 W/cm², le pourcentage de lyse aurait tendance à être plus important pour les caillots immergés dans du plasma sanguin que pour ceux immergés dans du sérum physiologique. Cette observation est très encourageante pour l'application à la thrombolyse puisque le plasma sanguin se rapproche plus des conditions réelles que le sérum physiologique.

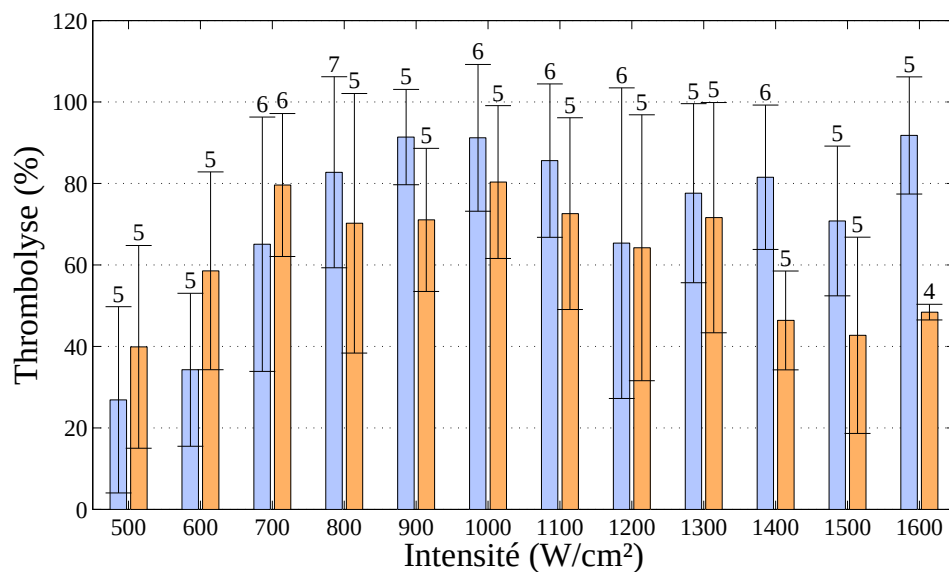


FIG. 4.10 – Efficacité thrombolytique du signal bifréquentiel selon que le caillot est immergé : barres bleu clair dans du sérum physiologique, barres orangées dans du plasma sanguin. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type et le nombre d'échantillons pour chaque réalisation est indiqué au-dessus de chaque barre.

Par contre pour des intensités plus élevées, on ne dépasse jamais les 80 %, en moyenne, dans le plasma sanguin, alors qu'on atteint 91 % dans le sérum physiologique. Cependant, si l'on observe l'état des caillots après insonification pour les deux types de liquide d'immersion, on s'aperçoit que les caillots immergés dans du plasma sont *troués* alors que ceux immergés dans du sérum physiologique ne présentent pas de forme spéciales. Les photos de la figure 4.11 montrent des exemples de caillot *après tir* dans le cas du plasma sanguin : a photo 4.11.a représente un caillot témoin, donc entier ; les photos 4.11.b et 4.11.c correspondent respectivement à des lyses de 62 % et 41 % ; la photo 4.11.d montre un résultat de 100 %. On rappelle que le caillot initial a un diamètre de $\varnothing 14$ mm, alors que le diamètre du volume focal du transducteur à -3 dB est de $\varnothing 3$ mm. Le plasma est beaucoup

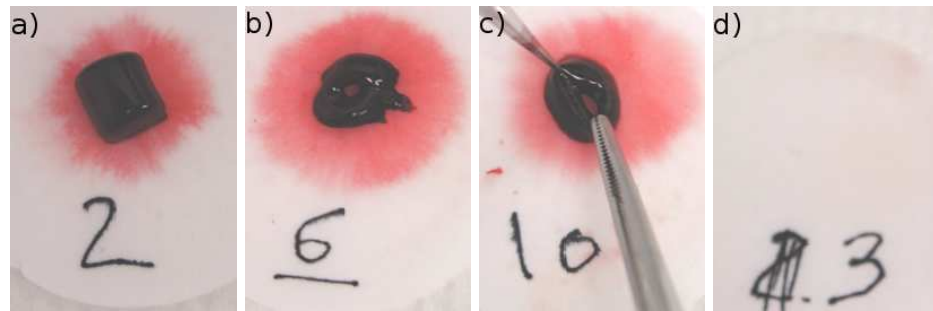


FIG. 4.11 – Quelques exemples de caillots après insonification dans du plasma sanguin : a) caillot intact (témoin), b) et c) caillot troué ($E_{th6} = 62\%$ et $E_{th10} = 41\%$) et d) caillot entièrement lysé ($E_{th} = 100\%$).

plus visqueux que le sérum physiologique (cf tableau 4.2). Il y a donc moins de

milieu	Viscosité η 10^{-3}Pa.s
eau	1,0
serum φ	1,0
plasma sanguin	1,6 à 2,0
sang total	4,0 à 6,0

TAB. 4.2 – Valeurs des viscosités de l'eau, du sérum physiologique, du plasma sanguin et du sang.

brassage dû aux courants induits par le champ ultrasonore et la cavitation, le caillot reste donc en place et est percé d'un trou correspondant aux dimensions du volume focal du transducteur. On obtient donc une meilleure sélectivité spatiale dans le plasma sanguin que dans le sérum physiologique, au prix d'une plus faible efficacité maximale liée à la taille très importante de nos caillots.

Par ailleurs, un tir d'amorçage est nécessaire en bifréquentiel pour initier la cavitation, ce qui peut s'expliquer par le fait que les caillots sont très peu réfléchissants par rapport à la cible utilisée au chapitre 3. La composante de la non-linéarité liée à la pression de radiation est donc d'autant diminuée. Le tir d'amorçage permet de produire des bulles qui vont à la fois favoriser la pression de radiation et augmenter le paramètre de non-linéarité du milieu, ce qui augmente le niveau de basse fréquence produite.

Dans son étude sur la thrombolyse purement ultrasonore, Rosenschein *et al.* [41] obtiennent 91 % de lyse avec une intensité I_{sppa} de 875 W/cm^2 ($I_{spta} = 35 \text{ W/cm}^2$, rapport cyclique de 1 : 25) ; les caillots sont immergés dans de l'eau dégazée, déionisée, les résidus sont filtrés à $50 \mu\text{m}$ et le caillot est déplacé perpendiculairement à l'axe acoustique à une vitesse de $0,25 \text{ mm.s}^{-1}$ de façon à ce que



le faisceau ultrasonore balaye entièrement le caillot. Le fait que les résidus soient filtrés à $50\text{ }\mu\text{m}$ au lieu de $25\text{ }\mu\text{m}$ dans notre cas augmente l'efficacité à intensité donnée. Cette différence de seuil de filtrage pourrait expliquer la différence entre nos intensités d'efficacité maximale. Leur étude est complétée par quelques expériences in vivo compatibles avec leurs résultats in vitro. Il est donc légitime de penser que l'excitation bifréquentielle est un bon candidat pour réduire les intensités nécessaires à la thrombolyse in vivo.

4.5 Conclusion

Dans le chapitre précédent, nous avons montré que l'on pouvait réduire de 40 % la puissance nécessaire pour initier la cavitation inertielle avec une excitation bifréquentielle sur une cible rugueuse. Les résultats de thrombolyse purement ultrasonore obtenus avec cette même excitation concordent. Nous obtenons une meilleure efficacité thrombolytique du signal bifréquentiel pour de faibles intensités. On atteint 80 % de lyse de la masse initiale du caillot avec des intensités respectives de $I_{sppa\ mono} = 1500\text{ W/cm}^2$ et $I_{sppa\ bi} = 800\text{ W/cm}^2$ pour des excitations mono- et bi-fréquentielle. Ces résultats sont obtenus dans du sérum physiologique en laissant le support de caillot immobile et en filtrant à $25\text{ }\mu\text{m}$. Par ailleurs, les expériences réalisées dans du plasma sanguin montrent que la thrombolyse requiert des puissances comparables, voire légèrement inférieures. De plus, la plus forte viscosité du plasma réduit le mélange occasionné par les tirs ultrasonores, et permet donc un meilleur contrôle spatial de l'action thrombolytique.

Conclusion

La présente thèse se place dans l'optique de favoriser localement l'activité de cavitation inertielle, en vue d'une application à la thrombolyse purement ultrasonore par voie extracorporelle. À cette fin, une excitation bifréquentielle focalisée, composée de deux hautes fréquences proches est étudiée.

Le dispositif expérimental spécialement conçu dans cette optique permet de générer un signal ultrasonore sur une cible de rugosité contrôlée à l'aide d'un transducteur focalisé. Un système d'écoute passive permet de quantifier l'activité de cavitation inertielle par intégration de la composante large-bande des signaux. Cette composante constitue en effet la signature acoustique de l'implosion des bulles de cavitation éventuellement créées sur la cible. Un *seuil de cavitation inertielle* a été précisément défini afin de pouvoir comparer rigoureusement les effets d'une excitation bifréquentielle par rapport à une excitation monofréquentielle.

Les résultats obtenus montrent que l'excitation bifréquentielle modifie le seuil de cavitation inertielle et que cette modification est directement liée à la combinaison non linéaire des deux composantes primaires de l'excitation. Si, pour de faibles seuils de cavitation, l'excitation bifréquentielle augmente l'intensité de seuil, elle permet de la réduire fortement dans un milieu où la cavitation est plus difficile à déclencher.

Pour des intensités supérieures au seuil de cavitation, la présence de bulles augmente fortement la non-linéarité du milieu, et l'évolution de l'activité de cavitation en excitation bifréquentielle est toujours beaucoup plus brutale que pour une excitation monofréquentielle. Ceci montre que de fortes activités de cavitation peuvent être atteintes pour des intensités à peine supérieures à celles du seuil, ce qui n'est pas systématiquement le cas en excitation monofréquentielle. De plus, on a une séparation plus nette entre régime cavitant et non cavitant, ce qui devrait permettre à terme de faciliter la planification des traitements.

Les expériences de déplacement de la cible hors du foyer montrent que, pour une puissance émise donnée, l'extension de la zone où la cavitation est déclenchée sur la cible correspond à la partie du champ ultrasonore primaire dans laquelle la pression dépasse le seuil de cavitation. L'extension de ce *champ de cavitation* est donc bien limitée à la taille de la zone focale des faisceaux haute-fréquence, ce qui montre le caractère localisé de l'effet de l'excitation bifréquentielle. Ce point constitue un atout important par rapport aux excitations multifréquentielles impli-



quant une onde basse-fréquence générée indépendamment, du point de vue de la sélectivité spatiale de cette méthode d'excitation.

L'excitation bifréquentielle envisagée semble donc permettre de favoriser le développement d'une forte activité de cavitation inertielle tout en conservant une bonne localisation de la zone dans laquelle la cavitation est susceptible d'intervenir.

La réalisation d'expériences sur des caillots sanguins in vitro a permis d'étudier la façon dont ces résultats se transposent à une situation de thrombolyse ultrasonore. L'excitation bifréquentielle a permis de réduire de moitié l'intensité nécessaire à l'obtention d'une thrombolyse quasi-totale. Les résultats dans le plasma sanguin ont, de plus, permis de vérifier que la zone lysée a bien la taille de la tache focale des faisceaux primaires haute-fréquence.

Ces résultats encourageants montrent le fort potentiel de cette méthode de contrôle de l'activité de cavitation dans le domaine de la thrombolyse ultrasonore. Ils devraient permettre à terme d'envisager le développement de systèmes de thrombolyse purement ultrasonore extracorporelle. Sur un plan plus large, l'utilisation de ce type d'excitation devrait s'avérer être une piste intéressante à chaque fois qu'une forte activité de cavitation est souhaitée tout en limitant au maximum les échauffements, liés aux fortes intensités employées.

Bibliographie

- [1] J. Curie and P. Curie. Développement par pression de l'électricité pôlaire dans les cristaux hermiédres à faces inclinées. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 91 :91–294, 1880.
- [2] EW Wood and AL Loomis. Physical and biological effects of high-frequency sound-waves of great intensity. *Phylosophical magazine*, 4 :417–436, 1927.
- [3] EN Harvey and AL Loomis. High frequency sound waves of small intensity and their biological effects. *Nature*, 121 :622–624, 1928.
- [4] JG Lynn, RL Zwemer, AJ Chick, and AE Miller. A new method for the generation and use of focused ultrasound in experimental biology. *Journal of General Physiology*, 26(2) :179–193, 1942.
- [5] W.J. Fry. Ultrasound in neurology. *Journal of the Acoustical society of America*, 27(5) :998–998, 1955.
- [6] KJ Parker, MS Asztely, RM Lerner, EA Schenk, and RC Waag. In-vivo measurements of ultrasound attenuation in normal or diseased liver. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 14(2) :127–136, 1988.
- [7] JC Bamber, CR Hill, and JA King. Acoustic properties of normal and cancerous human liver-ii. dependence of tissue structure. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 7(2) :135–144, 1981.
- [8] G. Berger, P. Laugier, M. Fink, and J. Perrin. Optimal precision in ultrasound attenuation estimation and application to the detection of duchenne muscular dystrophy carriers. *Ultrasonic Imaging*, 9(1) :1–17, 1987.
- [9] FJ Fry and JE Barger. Acoustical properties of the human skull. *Journal of the Acoustical society of America*, 63(5) :1576–1590, 1978.
- [10] KT Dussik, DJ Fritch, M. Kyriazidou, and RS Sear. Measurements of articular tissues with ultrasound. *American Journal of Physical Medicine*, 37(3) :160–165, 1958.
- [11] PA Narayana, J. Ophir, and NF Maklad. The attenuation of ultrasound in biological fluids. *Journal of the Acoustical society of America*, 76(1) :1–4, 1984.
- [12] HH Pennes. Analysis of tissue and arterial blood temperatures in the resting human forearm. *Journal of Applied Physiology*, 1 :93–122, 1948.

- [13] SA Sapareto and WC Dewey. Thermal dose determination in cancer therapy. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 10(6) :787–800, 1984.
- [14] P. Lele. Threshold and mechanisms of ultrasonic damages to "organized" animal tissues. *Hazzard D.G.*, pages 224–239, 1977.
- [15] C. Chaussy, W. Brendel, and E. Schmiedt. Extracorporeally induced destruction of kidney stones by shockwaves. *The Lancet*, 2 :1265–1268, 1980.
- [16] A. and MacConaghy B. and Bailey M. Sapozhnikov, O. and Maxwell. A mechanistic analysis of stone fracture in lithotripsy. *Journal of the Acoustical society of America*, 121 :1190–1202, 2007.
- [17] C.E. Brennen. *Cavitation and Bubbles Dynamics*. Oxford University Press, 1995.
- [18] TG Leighton. *The Acoustic Bubble*. Academic Press, 1994.
- [19] MS Plesset. Bubble dynamics and cavitation. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 9 :145–185, 1977.
- [20] F. Chavrier, JY Chapelon, and D. Gelet, A. and Cathignol. Modeling of high-intensity focused ultrasound-induced lesions in the presence of cavitation bubbles. *Journal of the Acoustical society of America*, 108(1) :432–440, 2000.
- [21] L.A. Crum. Surface oscillations and jet development in pulsating bubbles. *Journal de Physique*, 41 :285–288, 1979.
- [22] http://www.machinerylubrication.com/article_detail.asp?articleid=373.
- [23] DY Hsieh and MS Plesset. Theory of rectified diffusion of mass into gas bubbles. *Journal of the Acoustical society of America*, 33(2) :206–215, 1960.
- [24] A. Eller and HG Flynn. Rectified diffusion during nonlinear pulsations of cavitations bubbles. *Journal of the Acoustical society of America*, 37(3) :493–503, 1965.
- [25] CC Church. Prediction of rectified diffusion during nonlinear bubble pulsations at biomedical frequencies. *Journal of the Acoustical society of America*, 83(6) :2210–2216, 1988.
- [26] RE Apfel and CK Holland. Gauging the likelihood of cavitation from short-pulse, low-duty cycle diagnostic ultrasound. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 17(2) :179–185, 1991.
- [27] K. Hynynen. The threshold for thermally significant cavitation in dog's thigh muscle in vivo. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 17(2) :157–169, 1991.
- [28] TG Leighton. Bubble population phenomena in acoustic cavitation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2 :123–136, 1995.
- [29] I. Akhatov, U. Parlitz, and W. Lauterborn. Towards a theory of self-organization phenomena in bubble-liquid mixtures. *Physical Review E*, 54(5) :4990–5003, 1996.

- [30] U. Parlitz, R. Mettin, S. Luther, I. Akhatov, M. Voss, and W. Lauterborn. Spatio-temporal dynamics of acoustic cavitation bubble clouds. *Philosophical Transactions : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, pages 313–334, 1999.
- [31] Y. Matsumoto, S. Yoshizawa, and T. Ikeda. Dynamics of bubble cloud in focused ultrasound. In *Proceedings of the 2nd International Symposium on Therapeutic Ultrasound, ISBN 0-7354-0125-X, Seattle, America*, 2002.
- [32] Y. Matsumoto and S. Yoshizawa. Behaviour of a bubble cluster in an ultrasound field. *International Journal for Numerical Methods in Fluids*, 47(6–7) :591–601, 2005.
- [33] T. Ikeda, S. Yoshizawa, M. Tosaki, JS Allen, S. Takagi, N. Ohta, T. Kitamura, and Y. Matsumoto. Cloud cavitation control for lithotripsy using high intensity focused ultrasound. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 32(9) :1383–1397, 2006.
- [34] M. Arora, L. Junge, and CD Ohl. Cavitation cluster dynamics in shock-wave lithotripsy : part 1. free field. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 31(6) :827–39, 2005.
- [35] RG Holt and RA Roy. Measurements of bubble-enhanced heating from focused, mhz-frequency ultrasound in a tissue-mimicking material. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 27(10) :1399–1412, 2001.
- [36] RG Holt, RA Roy, PA Edson, and X Yang. Bubbles and hifu : the good, the bad, and the ugly. In *Proceedings of the 2nd International Symposium on Therapeutic Ultrasound*, pages 120–131, 2002.
- [37] RH Liu, Yang J., MZ Pindera, M. Athavale, and P. Grodzinski. Bubble-induced acoustic micromixing. *Lab on Chip*, 2 :151–157, 2002.
- [38] P Tho, R Manasseh, and A Ooi. Cavitation microstreaming patterns in single and multiple bubble systems. *J. Fluid Mech.*, 576 :191–233, 2007.
- [39] Tolentino TP, Apkarian RP, Zarnitsyn V, Prausnitz MR, Schlicher RK, Radhakrishna H. Mechanism of intracellular delivery by acoustic cavitation. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 32 :915–924, 2006.
- [40] S. Westermarck, H. Wiksell, H. Elmqvist, K. Hultenby, and H. Berglund. Effect of externally applied focused acoustic energy on clot disruption in vitro. *Clinical Science*, 97(1) :67–71, 1999.
- [41] U. Rosenschein, V. Furman, E. Kerner, I. Fabian, J. Bernheim, and Y. Eshel. Ultrasound imaging-guided noninvasive ultrasound thrombolysis : preclinical results. *Circulation*, 102(2) :238–245, 2000.
- [42] CD Ohl, M. Arora, R. Ikink, N. De Jong, M. Versluis, M. Delius, and D. Lohse. Sonoporation from jetting cavitation bubbles. *Biophysical Journal*, 91(11) :4285–4295, 2006.

- [43] DM Hallow, AD Mahajan, TE McCutchen, and MR Prausnitz. Measurement and correlation of acoustic cavitation with cellular bioeffects. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 32(7) :1111–1122, 2006.
- [44] S. Umemura, K. Kawabata, and K. Sasaki. In vitro and in vivo enhancement of sonodynamically active cavitation by second-harmonic superimposition. *Journal of the Acoustical society of America*, 101(1) :569–577, 1997.
- [45] K. Kawabata and S. Umemura. Use of second-harmonic superimposition to induce chemical effects of ultrasound. *J. Phys. Chem*, 100 :18784–18789, 1996.
- [46] K. Kawabata and S. Umemura. Effect of second-harmonic superimposition on efficient induction of sonochemical effect. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3 :1–5, 1996.
- [47] S. Umemura, K. Kawabata, and K. Sasaki. Enhancement of sonodynamic tissue damage production by second-harmonic superimposition : theoretical analysis of its mechanism. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, 43(6) :1054–1062, 1996.
- [48] J. Holzfuss, M. R  ggeberg, and R. Mettin. Boosting sonoluminescence. *Physical Review Letters*, 81(9) :1961–1964, 1998.
- [49] G. Iernetti, P. Ciuti, NV Dezhkunov, M. Reali, A. Francescutto, and GK Johri. Enhancement of high-frequency acoustic cavitation effects by a low-frequency stimulation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 4(3) :263–268, 1997.
- [50] P. Ciuti, NV Dezhkunov, A. Francescutto, AI Kulak, and G Iernetti. Cavitation activity stimulation by low frequency field pulses. *Ultrasonics Sonochemistry*, 7(4) :213–216, 2000.
- [51] Y. Zhao, C. Zhu, R. Feng, J. Xu, and Y. Wang. Fluorescence enhancement of the aqueous solution of terephthalate ion after bi-frequency sonication. *Ultrasonics Sonochemistry*, 9 :241–243, 2002.
- [52] P. Ciuti, NV Dezhkunov, A. Francescutto, F. Calligaris, and F. Sturman. Study into mechanisms of the enhancement of multibubble sonoluminescence emission in interacting fields of different frequencies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 10(6) :337–341, 2003.
- [53] R. Feng, Y. Zhao, C. Zhu, and TJ Mason. Enhancement of ultrasonic cavitation yield by multi-frequency sonication. *Ultrasonics Sonochemistry*, 9(5) :231–236, 2002.
- [54] JL Thomas, Y. Forrterre, and M. Fink. Boosting sonoluminescence with high-intensity ultrasonic pulse focused on the bubble by an adaptive array. *Physical Review Letters*, 88(7) :1–4, 2002.
- [55] PA Tatake and AB Pandit. Modelling and experimental investigation into cavity dynamics and cavitation yield : influence of dual frequency ultrasound sources. *Chemical Engineering Science*, 57 :4987–4995, 2002.

- [56] PR Gogate, IZ Shirgaonkar, P. Senthilkumar, NP Vichare, and AB Pandit. Cavitation reactor : Efficiency assesment using a model reaction. *AIChE Journal*, 47(11) :2526–2538, 2001.
- [57] PR Gogate and AB Pandit. Engineering design for method for cavitational reactors : I. sonochemical reactors. *AIChE Journal*, 46(2) :372–379, 2000.
- [58] PR Gogate, S. Mujumdar, and AB Pandit. Sonochemical reactors for waste water treatment : comparison using formic acid degradation as a model reaction. *Advances in Environmental Research*, 7 :283–299, 2003.
- [59] P.Z. He, R.M. Xia, S.M. Duan, W.D. Shou, and D.C. Qian. The affection on the tissue lesions of difference frequency in dual-frequency high-intensity focused ultrasound (hifu). *Ultrasonics Sonochemistry*, 13(4) :339–344, 2006.
- [60] [http ://www.uphs.upenn.edu/news/news_releases/2009/08/fibrin-blood-clot-structure/](http://www.uphs.upenn.edu/news/news_releases/2009/08/fibrin-blood-clot-structure/).
- [61] [http ://www.medterms.com/script/main/art.asp?articlekey=99127](http://www.medterms.com/script/main/art.asp?articlekey=99127).
- [62] S. Atar, H. Luo, T. Nagai, and RJ Siegel. Ultrasonic thrombolysis : catheter-delivered and transcutaneous applications. *European Journal of Ultrasound*, 9 :39–54, 1999.
- [63] W. Steffen, MC Fishbein, H Luo, DY Lee, H. Nita, DC Cumberland, SW Tabak, M. Carbonne, G. Maurer, and RJ Siegel. High intensity, low frequency catheter-delivered ultrasound dissolution of occlusive coronary artery thrombi : an in vitro and in vivo study. *Journal of the American College of Cardiology*, 24(6) :1571–1579, 1994.
- [64] R. D. Shlansky-Goldberg, D. B. Cines, and C. M. Sehgal. Catheter-delivered ultrasound potentiates in vitro thrombolysis. *J Vasc Interv Radiol*, 7(3) :313–320, 1996.
- [65] R. Kornowski, RS Meltzer, A. Chernine, Z. Vered, and A. Battler. Does external ultrasound accelerate thrombolysis ? results from a rabbit model. *Circulation*, 89(1) :339–344, 1994.
- [66] CW Francis, A. Blinc, S. Lee, and C. Cox. Ultrasound accelerates transport of recombinant tissue plasminogen activator into clots. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 21(3) :419–424, 1995.
- [67] B. Devcic-Kuhar, S. Pfaffenberger, M. Gr'oschl, C. Kollmann, E. Benes, and M. Gottsauner-Wolf. In vitro thrombolysis enhanced by standing and traveling ultrasound wave fields. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 28(9) :1181–1187, 2002.
- [68] S. Datta, CC Coussios, LE McAdory, J. Tan, T. Porter, G. De Courten-Myers, and CK Holland. Correlation of cavitation with ultrasound enhancement of thrombolysis. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 32(8) :1257–1267, 2006.
- [69] AF Prokop, A. Soltani, and RA Roy. Cavitational mechanisms in ultrasound-accelerated fibrinolysis. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 33(6) :924–933, 2007.

- [70] TR Porter, RF LeVeen, R. Fox, A. Kricsfeld, and F. Xie. Thrombolytic enhancement with perfluorocarbon-exposed sonicated dextrose albumin microbubbles. *American Heart Journal*, 132(5) :964–968, 1996.
- [71] Y. Birnbaum, H. Luo, T. Nagai, MC Fishbein, TM Peterson, S. Li, T. Kricsfeld, TR Porter, and RJ Siegel. Noninvasive in vivo clot dissolution without a thrombolytic drug : recanalization of thrombosed iliofemoral arteries by transcutaneous ultrasound combined with intravenous infusion of microbubbles. *Circulation*, 97(2) :130–134, 1998.
- [72] S. Schäfer, S. Kliner, L. Klinghammer, H. Kaarmann, I. Lucic, U. Nixdorff, U. Rosenschein, WG Daniel, and FA Flachskampf. Influence of ultrasound operating parameters on ultrasound-induced thrombolysis in vitro. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 31(6) :841–847, 2005.
- [73] JL Mestas, P. Lenz, and D. Cathignol. Long-lasting stable cavitation. *Journal of the Acoustical society of America*, 113(3) :1426–1430, 2003.
- [74] SD Howkins. Measurements of the resonant frequency of a bubble near a rigid boundary. *Journal of the Acoustical society of America*, 37(3) :504, 1965.
- [75] E. Blanc and J Godo. Milieu de couplage pour ultrasons de puissance. *European Patent*, EP 1 038 551 B1, 2000.
- [76] AV Rajulu, KC Rao, and SV Naidu. Ultrasonic studies in solutions of polyvinyl pyrrolidone. *Acustica*, 75 :213–216, 1991.
- [77] KC Rao, AV Rajulu, and SV Naidu. Acoustical parameters of poly(vinyl pyrrolidone) solutions. *Acta Polymerica*, 40 :743–746, 1989.