

Séchage de gouttes de sang humain

Benjamin SOBAC*, David BRUTIN

Laboratoire IUSTI UMR 6595 CNRS – Aix-Marseille Université (U1-U2)
5 rue Enrico Fermi – Technopole de Château-Gombert – 13013 Marseille -France
*(auteur correspondant : benjamin.sobac@polytech.univ-mrs.fr)

Résumé - Le séchage de goutte sessile de sang humain met en évidence des mécanismes physiques couplés faisant intervenir l'évaporation, la convection thermo-capillaire, la mouillabilité... L'étape finale du séchage d'une goutte de sang humain complet révèle des motifs réguliers avec une bonne reproductibilité. L'écoulement au sein de la goutte en cours de séchage met en évidence une phase de dépôt des colloïdes lourds (globules rouges, blancs et plaquettes) alors que les colloïdes légers sont transportés dans le fluide en suspension. Le motif induit traduit donc cette séparation naturelle opérée par la mécanique des fluides et la thermique. Les visualisations sont réalisées à l'aide d'un appareil photo numérique et d'une optique micrométrique.

Nomenclature

Lettres romaines

C	Conc. massique en colloïdes (%)
D	Diamètre de goutte (m)
D_c	Diamètre de la couronne (m)
H	Hématocrite (%)
m	Masse de la goutte (g)
Q_m	Flux massique d'évaporation ($\mu g/s$)
T	Température ($^{\circ}C$)

Symboles grecs

μ	Viscosité dynamique ($Pa.s$)
ρ	Masse volumique ($kg.m^{-3}$)
σ	Tension de surface ($N.m^{-1}$)
Δ	Incertitude (-)
θ	Angle de mouillage ($^{\circ}$)

1. Introduction

Plusieurs modes d'évaporation peuvent être observés dans les gouttes selon la nature du fluide : pur ou complexe. Les fluides purs sont largement étudiés et les mécanismes d'évaporation commencent à être compris [1]. Pour les fluides complexes, comme une goutte de café, le sujet a été bien étudié mettant en évidence l'influence des colloïdes sur le motif final [2]. Quant aux fluides biologiques comme le sang humain, le sérum humain ou le sang complet, ils présentent des motifs différents selon l'état de santé du patient [3]. Le sang est une suspension colloïdale complexe qui se comporte comme un fluide non-newtonien. Puisque les colloïdes du sang ont des formes compliquées, l'analogie avec des suspensions colloïdales n'est pas évidente [4]. L'adhérence avec le substrat ainsi que la biochimie des colloïdes joue clairement un rôle dans le séchage des gouttes de sang humain. Tout le travail actuel constitue à distinguer les parties du motif dues à la mécanique des fluides ou à la convection thermo-capillaire des motifs typiquement dues à la biologie.

Quand une goutte de sang s'évapore, tous les colloïdes sont transportés par la convection thermo-capillaire à l'intérieur de la goutte et interagissent. Un constat surprenant est que seules les observations expérimentales des gouttes séchées de sérum (humain ou animal) ont été réalisées et seulement publiées dans des journaux médicaux. Le processus de séchage est à peine analysé dans la littérature; seul le modèle final obtenu après l'évaporation est utilisé pour différencier des personnes saines de patients avec des maladies. Cette technique a été utilisée pour stocker des échantillons quand les conditions de stockage ne sont pas favorables

(analyses sur le terrain...) [5]. Par exemple, les gouttes de sérum séchées ont été utilisées pour détecter l'infection d'hépatite B en utilisant du papier filtre comme substrat.

Des phénomènes semblables à ceux observés avec le sang humain complet sont présentés dans le cas de la dessiccation d'une suspension colloïdale [6]. Des motifs formés par la dessiccation d'une suspension de billes micrométriques de mica dans une goutte sessile placée sur une surface de verre ont été observés. Ils montrent que la formation des craquelures est due à la salinité de la suspension. Les observations expérimentales avec des microparticules de mica dans l'eau dé-ionisée [7] sont confirmées par Popov [8]. La suspension biologique utilisée dans cette étude est le sang humain complet dont la protéine de coagulation (fibrinogène) a été enlevée. Les globules rouges sont observés grâce à la transparence relative de la goutte dont l'épaisseur maximale est de 500 μm .

2. Matériel et méthode

2.1. Dispositif expérimental

Le principe de l'expérience consiste à déposer une goutte sur un substrat horizontal et à étudier son évaporation spontanée. L'ensemble des expériences a été réalisé dans un environnement contrôlé à température ambiante. Les conditions atmosphériques (température, pression et humidité) sont enregistrées en permanence à l'aide d'une station météorologique. Les substrats utilisés sont des lames de verre de microscope. L'évaporation a lieu dans une boîte parallélépipédique (100 x 100 x 150 mm^3) afin d'éviter des perturbations externes. Le volume de cette boîte est assez grand pour éviter les modifications des conditions aux limites, en particulier sur l'humidité loin de la goutte. Afin de suivre le processus de séchage, un enregistrement de la masse à une fréquence de 10 Hz est effectué avec une balance numérique Mettler Toledo XS 205 de résolution de 10 μg connecté à un ordinateur.

De plus, une visualisation par vue de dessus est réalisée au moyen d'un appareil photo numérique Canon EOS 7D couplé avec un objectif macro x1-x5. Cet outil permet d'obtenir des images en 5184x3456 pixels en x1 avec une résolution spatiale de 4,3 μm . Une résolution spatiale de 0,86 μm peut être atteinte en x5 permettant d'avoir suffisamment de détails pour des observations locales. Enfin, une lampe à lumière blanche froide à 5000 K \pm 270 K est utilisée comme unique source de lumière afin d'éviter les réflexions sur l'interface de la goutte de sang. L'effet de la densité de lumière sur le processus de séchage a été vérifié pour s'assurer qu'elle n'implique aucune perturbation d'ordre biologique.

2.2. Propriétés biologiques et physiques du sang

Les échantillons de sang sont prélevés sur des volontaires en bonne santé dans un laboratoire d'analyses médicales. Ils sont fournis dans leurs tubes de prélèvement stériles de volume 10ml avec une analyse biologique et biochimique complète. Une caractérisation des propriétés physiques du sang a été réalisée afin d'avoir une meilleure compréhension des mécanismes observés. La viscosité du sang complet est mesurée à l'aide d'un viscosimètre Physica MCR 501 'Anton Paar' tandis que les mesures de tension de surface sont réalisées par la méthode de la goutte pendante [3]. La masse volumique du sang est prise égale à 1040 $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Les angles de contacts mesurés sur le verre mettent en évidence un fort étalement avec 14.8° \pm 16.2 %.

3. Expériences

3.1. Ecoulement et séchage

Les différentes étapes d'évaporation de gouttes de sang sont présentées avec la figure 1. Le diamètre initial de la goutte est de 5.9 mm et l'agrandissement utilisé est x4.8 pour permettre la visualisation des globules rouges. Les images du film n'ont subi aucun traitement à part un rognage de la taille originale qui était 5184 par 3456 pixels. Le processus d'évaporation/dessiccation peut être divisé en 6 étapes qui sont détaillées ci-dessous. Le temps d'évaporation total pour le cas présenté est de 36 minutes et les durées des étapes sont présentées en pourcentage du temps total d'évaporation :

- Etape 1 [de 0% à 20%] : les globules rouges se déplacent du centre de la goutte à la ligne de dessiccation qui recule. Un dépôt rouge est observé au bord de la goutte. La vitesse de recul mesurée de la ligne de dessiccation est de $0.7 \mu\text{m/s}$.
- Etape 2 [de 20% à 50%] : la cristallisation apparaît au bord de la goutte et se propage vers l'intérieur. Le processus de dessiccation continue du bord vers l'intérieur de la goutte. Un tore rouge foncé est observé mettant en évidence une composition différente. Ce tore contient une forte concentration en globules rouges. A l'aide d'un microscope optique, ces cellules sont clairement observées se déplaçant du centre au bord de la goutte.
- Etape 3 [de 50% à 70%] : le tore rouge foncé sèche rapidement et simultanément la couleur de la partie centrale de la goutte change en rouge claire. La goutte est presque totalement desséchée et les premières craquelures apparaissent autour de la goutte entre la couronne et la partie centrale.
- Etape 4 [de 70% à 85%] : la partie centrale de la goutte dessèche, des plaques beaucoup plus petites apparaissent. L'assèchement de couronne met en évidence de larges craquelures blanches obtenues par démouillage des globules rouges sur le verre.
- Etape 5 [de 85% à 100%] : les grandes plaques de la couronne se déplacent légèrement vers leur dernier point d'attache car elles n'adhèrent pas du tout au substrat. Cela conclut l'assèchement de la goutte et aucun nouveau changement n'est observé.

Toutes les gouttes de sang séchées présentent des caractéristiques semblables : la partie centrale de la goutte, les larges plaques de la couronne avec les larges craquelures blanches et la périphérie. Tandis que la partie centrale de la goutte et la périphérie adhèrent parfaitement sur le substrat en verre principalement grâce à la très faible proportion en globules rouges, la couronne est l'endroit de formation de plaques mobiles qui n'adhère pas au substrat à cause de la forte concentration en globules rouges. L'explication de ce phénomène de mouillage se trouve dans la protéine (glycoprotéines) qui existe à la surface des globules rouges pour leur éviter toute adhérence.

Lors de la 1^{ère} étape de l'évaporation de la goutte, le sang est homogène en colloïdes, c'est pourquoi une couche mince à la périphérie peut sécher sur la plaque de verre. Cependant, avec la mise en place de la convection thermo-capillaire, les globules rouges (et d'autres colloïdes lourds) s'accumulent au niveau de la ligne triple qui recule vers l'intérieur de la goutte. Les globules rouges s'accumulent par la convection thermo-capillaire pour former un

dépôt solide qui sera appelé par la suite : couronne. Le liquide restant qui compose la goutte est principalement constitué de sérum sanguin sans colloïdes lourds. La couleur rouge claire est due à de l'hémoglobine passée dans le sérum.

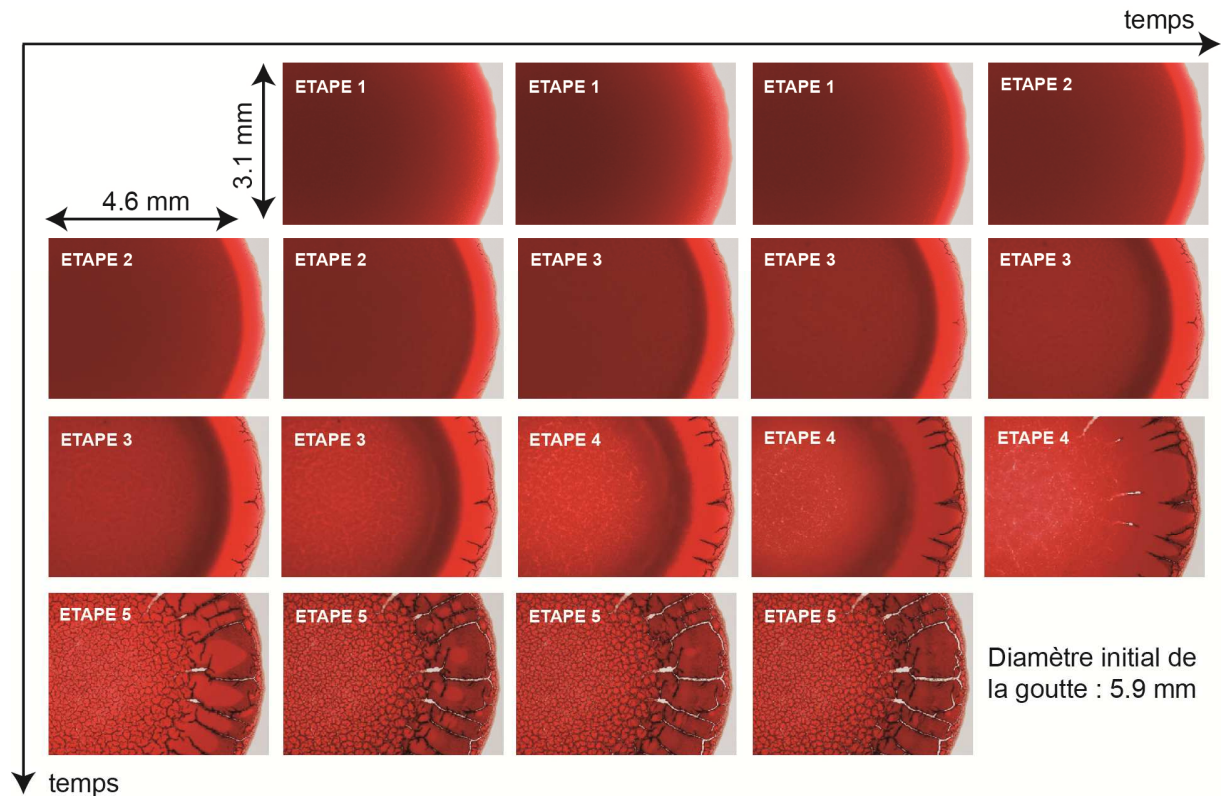


Figure 1 : Mécanismes régissant le séchage d'une goutte de sang humain [température ambiante : 22°C, humidité : 30%, substrat de verre de microscope, 100 secondes entre chaque image].

4. Analyse des résultats

4.1. Mécanismes physiques mis en jeu

Pour confirmer les différents mécanismes impliqués dans le processus de séchage, nous avons comparé le flux massique d'évaporation de trois gouttes : sang complet, sérum sanguin et eau ultra pure (HPLC). Les étapes de l'évaporation des gouttes sont présentées sur la figure 2 où il apparaît que la convection dans la phase liquide de la goutte pilote principalement le processus de séchage puisque les courbes du sang et du sérum présentent un bon accord avec la courbe de l'eau ultra pure. Les courbes des suspensions colloïdales (sang et sérum) sont corrigées en divisant le flux de massique d'évaporation par la concentration massique liquide réelle (qui est pour le sang de 76.1% et pour le sérum de 88.1%).

Au début de l'expérience, la goutte de sang est déposée sur la lame de verre et sa forme est hémisphérique, les globules rouges sont répartis homogènement à l'intérieur de la goutte qui a une épaisseur d'environ 0.5 mm et un diamètre de 5.9 mm. La goutte sèche car l'eau contenue dans le sérum s'évapore. Dans le même temps en raison de la convection Marangoni; les globules rouges sont accumulés à la périphérie créant une couche de dépôt biologique. A 50% du temps total d'évaporation, la forme de la goutte n'est plus classique avec une partie plate centrale. Des craquelures sont déjà apparues à la périphérie de la goutte et se propagent

vers le centre. La convection Marangoni n'est plus possible et quelques globules rouges sont encore présents dans la partie centrale de la goutte (partie rouge clair) tandis que la majeure partie de ces derniers a été déposée dans le secteur de couronne. À 70% du temps de total d'évaporation, la partie centrale asséchée présente de petites craquelures de tailles bien inférieures à celles de la couronne. Ce dernier du processus de fracturation est caractérisé par une forte diminution du flux massique d'évaporation puisque l'eau restante à évaporer est contenue au sein des globules rouges qui sont empilés telles des sphères molles. Pendant cette dernière étape, à 85% du temps de total d'évaporation, les globules rouges, qui sont juste des coquilles contenant l'hémoglobine, libèrent l'eau restante qui peut alors s'évaporer après diffusion à travers la couche de matériau biologique déposée sur le substrat.

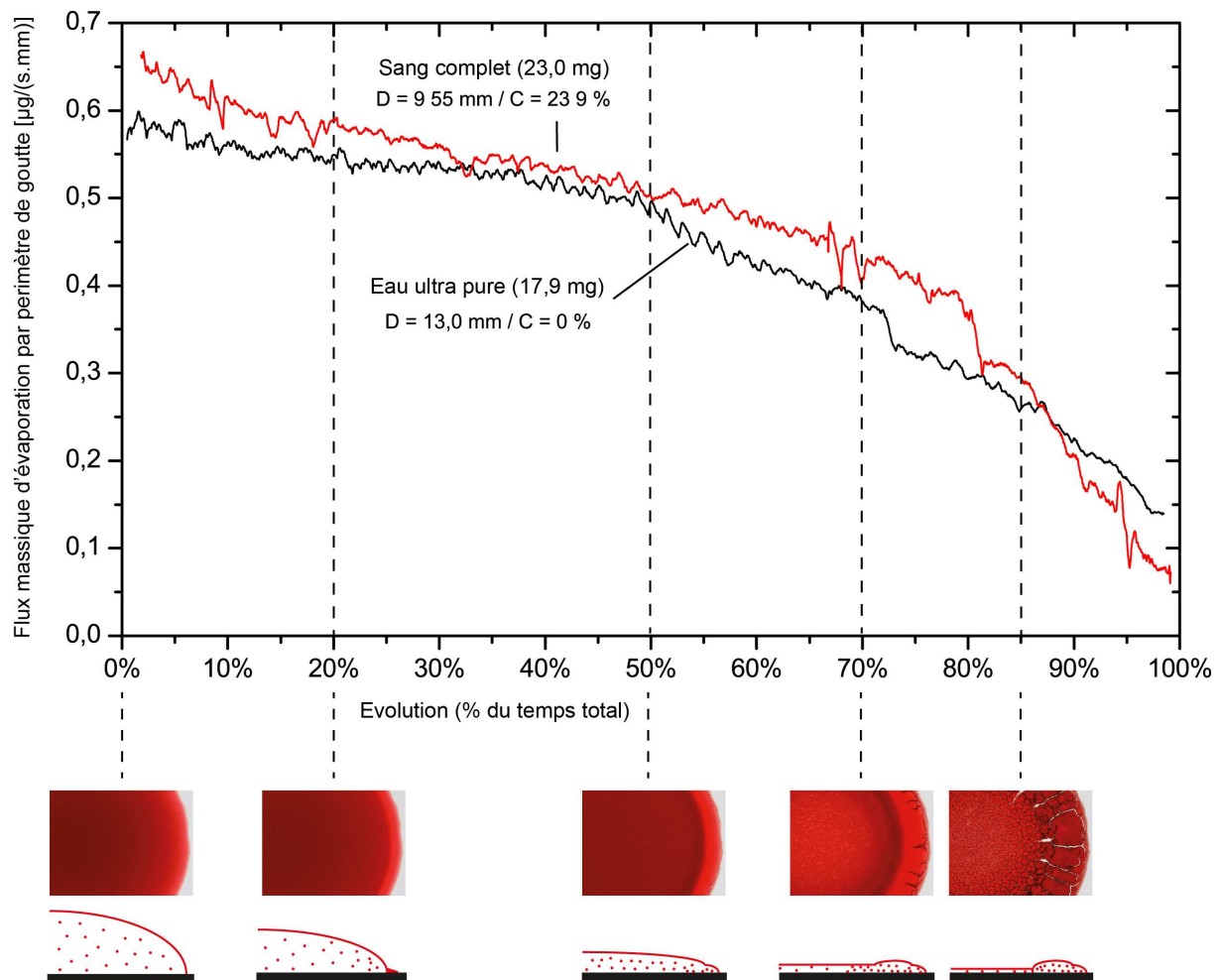


Figure 2 : Évolution du flux massique d'évaporation par périmètre de goutte : une correction de la fraction massive solide (C) est appliquée pour le sang complet et le sérum pour ne prendre en compte que la masse réelle de liquide évaporée [$Qm_{\text{corrigé}} = Qm_{\text{brut}} / (1-C)$] [température ambiante : 29°C, humidité : 30%, substrat en verre].

L'analyse du processus de séchage est basée sur le débit massique d'évaporation comme présenté avec la figure 2. Il est possible de comparer les trois courbes en divisant le débit massique par le diamètre de la goutte puis en prenant en compte la fraction massique de colloïdes qui n'interviennent pas dans l'évaporation. Quel que soit le fluide, les débits

massiques d'évaporation diminuent linéairement dans un premier temps. Ceci est en accord avec la réduction du périmètre de ligne triple qui se produit à la fois pour l'eau sur le verre mais aussi pour le sang complet et le sérum. Malgré l'augmentation de la concentration en colloïdes durant l'évaporation de la goutte, les dynamiques globales d'évaporation restent identiques. Ceci fait l'objet de nos recherches actuelles.

5. Conclusion

L'observation du mouvement convection des globules rouges à l'intérieur d'une goutte de sang humain en évaporation nous permet d'analyser les mécanismes d'évaporation de ce fluide biologique complexe et de faire un comparatif par rapport aux fluides purs. Les mécanismes impliqués dans l'évaporation d'une goutte de sang sont confirmés par le flux massique d'évaporation qui est mesuré par pesée. D'autres éléments biologiques (globules blancs, protéines...) sont transportés pendant le séchage de la goutte en périphérie ce qui contribue à la formation d'un motif typique due à la fois à la mouillabilité du dépôt avec le substrat et due aux propriétés mécaniques de ce dernier. La dynamique d'évaporation du sang complet peut être prévue par une comparaison au cas d'évaporation de l'eau ultra pure en effectuant une correction sur la concentration en colloïdes. La taille des colloïdes ne semble pas influencer le processus de séchage. La mécanique des fluides mise en jeu dans cette goutte de colloïdes inclut la convection thermo-capillaire mais fait également intervenir fortement le comportement hydrophobe des globules rouges avec le substrat.

Références

- [1] Brutin D., Sobac B., F. Rigollet, C. Le Niliot, *Infrared visualization of thermal motion inside a sessile drop deposited onto a heated surface*, Experimental Thermal and Fluid Science, vol. 35, (2011), pp. 521-530.
- [2] Deegan, R. D., Bakajin, O., Dupont, T. F., Huber, G., Nagel, S. R., and Witten, T. A., *Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquid drops*. Nature, vol. 389 (1997), pp.827-829.
- [3] Brutin D., Sobac B., Loquet B., Sampol J., *Pattern formation in drying drops of blood*, Journal of Fluid Mechanics, vol. 667, (2011), pp. 85-95.
- [4] Pozrikidis, C., *Flipping of an adherent blood platelet over a substrate*. Journal of Fluid Mechanics, vol. 568, (2006), pp. 161-172.
- [5] Zhuang, H., Coulepis, A. G., Locarnini, S. A., and Gust, I. D., *Detection of markers of hepatitis b infection in serum dried on to filter-paper: an application to field studies*. Bulletin of the World Health Organization, vol. 60, (1982), pp. 783-787.
- [6] Pauchard, L., Parisse, F., and Alain, C., *Influence of salt content on crack patterns formed through colloidal suspension desiccation*. Physical Review E, vol. 59, (1999), pp. 3737-3740.
- [7] Deegan, R. D., *Pattern formation in drying drops*. Physical Review E, vol. 61, (2000), pp. 475-485.
- [8] Popov, Y., *Evaporative deposition patterns: Spatial dimensions of the deposit*. Physical Review E, vol. 71, (2005), 036313.