

Mesures et collectes de flux pancréatique chez le porcelet

Eric Bobillier¹

Résumé : *Cet article a pour but de vous présenter un système automatique de mesure du débit et de collecte d'échantillons de flux pancréatique chez le porcelet vigile² lors de la phase de sevrage.*

Après un rapide rappel des enjeux scientifiques, nous nous intéresserons aux problématiques techniques liées à la mesure de débits faibles dans un contexte expérimental mobile.

Mots clés : Mesure de débit, Flux pancréatique, Porc, Porcelet.

Introduction

En production porcine, la période du sevrage est un événement critique de l'élevage. En effet, le porcelet va subir plusieurs stress importants en une courte période. Le premier stress est d'ordre émotionnel puisqu'il est séparé de sa mère et de la fratrie. Le second est social puisque l'animal se retrouve seul dans un nouvel environnement qu'il pressent hostile. Le troisième est d'ordre nutritionnel, car il va passer du lait maternel à un aliment de sevrage de consistance de goût et de préhension radicalement différents.

Ces stress entraînent le plus souvent des perturbations digestives associées à un affaiblissement immunitaire induit par la modification de la flore intestinale. Ce qui va généralement se traduire pour l'animal par des diarrhées ou par son décès dans les cas les plus aigus. Pour éviter ce risque, les éleveurs donnent à l'animal durant cette période, un aliment de sevrage contenant des antibiotiques. Malheureusement, l'accumulation de ces antibiotiques durant la vie de l'animal, se retrouvera tôt ou tard dans nos assiettes.

La Commission européenne, sensibilisée par l'excès d'antibiotiques retrouvés dans la chaîne alimentaire, a décidé, de rechercher des solutions³ pour, à terme, les supprimer dans l'aliment de sevrage. Des approches sont étudiées, parmi lesquelles celle concernant le rôle du flux pancréatique dans le processus digestif, et ses éventuels effets antibiotiques. C'est cette approche que nous avons explorée.

1. Problématique scientifique

Pour étudier les effets du flux pancréatique sur la régulation du système digestif, il faut tout d'abord évaluer la production de flux par le pancréas, et en définir les constituants. Il s'agit sur le plan technique de mesurer le débit fluide de l'organe et d'en échantillonner une quantité suffisante pour doser ultérieurement ces éléments. La méthode classiquement utilisée pour effectuer ces mesures est le « by-pass » du canal pancréatique. Dans ce cas, on sectionne chirurgicalement ce canal, et on le remplace par un cathéter formant une boucle sortant à l'extérieur de l'animal.

¹ UMR SENAH Domaine de la prise 35590 St-Gilles ☎ 02 23 48 50 76 Eric.Bobillier@rennes.inra.fr

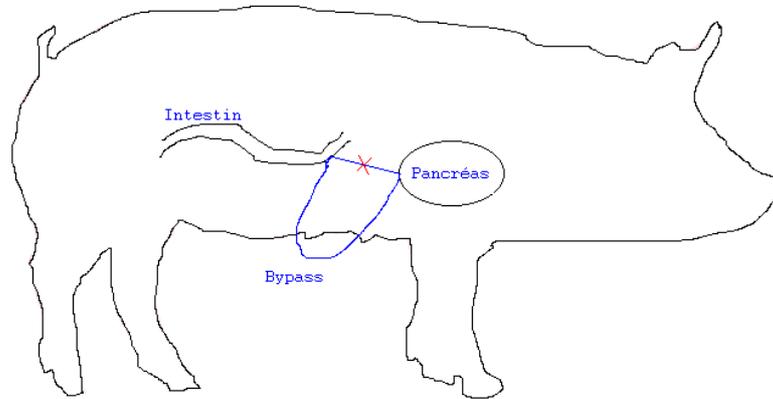
² Un porc vigile est porc en état d'éveil qui subit une expérimentation de longue durée équipé d'un dispositif de mesure. Ce dispositif aura été mis en place sous anesthésie.

³ par le biais du contrat européen « Healthypiggut »

Cette boucle sera ensuite sectionnée pour permettre :

- de mesurer le débit par la méthode du comptage de goutte (ou volumétrique) ;
- d'effectuer des prélèvements pour les dosages.

Afin de ne pas trop perturber le métabolisme de l'animal, on réinjectera le flux utilisé directement dans le duodénum, via le cathéter.



Les limites de cette méthode sont rapidement envisageables :

- Imprécision de la mesure (nombre de gouttes par unité de temps),
- Enregistrement manuel des valeurs,
- Nécessité de bloquer l'animal pour éviter le retrait du compte goutte,
- Omniprésence d'un opérateur pour l'échantillonnage, entraînant un stress pour l'animal,
- Réinjections de flux, différées dans le temps, pouvant entraîner un décalage physiologique.

Afin d'améliorer la qualité des mesures et le travail des opérateurs, nous avons conçu un dispositif automatique de mesure du débit et de collecte de flux. Ce système doit :

- Suivre le débit de 6 porcelets simultanément,
- Mesurer en temps réel le débit de flux et l'enregistrer, et ce pendant au moins 6 jours en continu
- Programmer différentes périodes de collectes,
- Enregistrer les données annexes (comportement de l'animal, annotations diverses, etc.),
- Perturber *ad minima* le métabolisme de l'animal,
- Laisser une liberté de mouvement à l'animal pour diminuer le stress environnemental (animal en cage individuelle),
- Fournir des données au format EXCEL.

2. Problématiques Techniques

Une première analyse du procédé a mis en évidence que le dispositif devait être constitué de boîtiers, situés près des cages des animaux. Ceci afin de limiter les longueurs de tuyaux nécessaires à la collecte de flux et simplifier l'installation du dispositif. Ces boîtiers prennent en charge la mesure et la récupération d'échantillons de flux, et fournissent des données à un ordinateur par le biais d'un bus commun. L'ordinateur met en forme les données reçues (calcul, affichage, stockage) et gèrent la synchronisation des différentes tâches

(Démarrage/arrêt des mesures et collectes). La mesure du débit et la collecte des échantillons étaient les deux problèmes majeurs restant à résoudre.

2.1 La mesure du débit

Par des mesures préliminaires effectuées avec la méthode du comptage de gouttes nous avons évalué un débit compris entre 1 et 20 ml/h. Ce débit extrêmement faible posait 2 contraintes d'une part, le choix du capteur capable de l'évaluer et d'autre part, La réduction maximale, des longueurs de cathéter utilisées pour le by-pass de mesure.

En effet, une première approche du dispositif consistait à déporter le capteur à l'extérieur de la cage, pour s'affranchir des perturbations provoquées par les mouvements de l'animal (contrainte du cahier des charges). Mais, la longueur de tuyau nécessaire (2 fois 1m) induisait un décalage temporel de 30 à 45 mn entre la production de flux par le pancréas et son retour dans l'intestin (comparativement à un animal non équipé). Cette durée jugée trop agressive pour le métabolisme de l'animal, nous avons choisi de faire la mesure au plus près de l'animal, autrement dit sur l'animal. Le dispositif comprendrait donc 2 éléments : un boîtier externe chargé de dialoguer avec l'ordinateur et de prendre en charge diverses fonctions et un capteur situé sur l'animal (**schéma 1**).

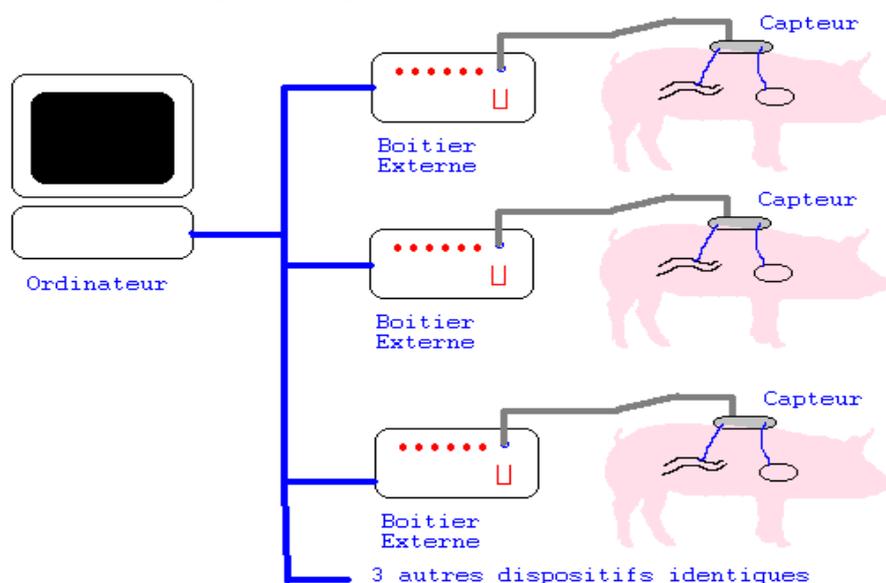


Schéma 1 : Représentation fonctionnelle du dispositif de mesure

Cette approche apportait là aussi, de nouvelles contraintes pour le choix du capteur :

- 1) le capteur devait s'affranchir des mouvements de l'animal,
- 2) le poids et l'encombrement du dispositif placés sur l'animal devaient être réduits au maximum pour ne pas le gêner (taille maximum d'une grosse boîte d'allumette soit 100/50/25 mm).
- 3) Une liaison filaire protégée devait être établie entre le capteur et le boîtier de mesure, pour permettre transmission et alimentation. *Nota* : une transmission radio permettant d'éviter toute liaison physique entre l'animal et le boîtier avait été envisagée, mais dans ce cas, il fallait abandonner l'option collecte d'échantillons.

2.1.a Choix du capteur

La faiblesse du débit (1 à 20 ml/h) interdisait l'utilisation de capteurs tels que : le capteur de débit à turbine (hélice), à débitmètre électromagnétique ou à ultrasons.

Le débitmètre massique n'était pas adapté car le chauffage utilisé dans ce capteur aurait dégradé le flux pancréatique, et donc aurait altéré le métabolisme de l'animal ; les analyses des échantillons auraient été faussées. Le compteur de gouttes devenait inutilisable à cause des mouvements de l'animal.

Il ne restait plus que la mesure volumétrique. Dans ce cas, on mesure le temps que met un volume fixe à se remplir. Plus le débit est élevé, plus le temps est court. Ces mesures se font dans le calme pour éviter toute fausse détection liée aux mouvements du fluide dans le volume mesuré. Par ailleurs, l'animal pouvant se coucher sur le côté, le capteur n'est pas systématiquement à l'horizontal, d'où les problèmes de détection éventuels.

Une fois le volume rempli, il faut le vider rapidement pour recommencer une nouvelle mesure. Cela implique l'utilisation d'une pompe miniature, et obturante à l'arrêt, pour éviter que le volume ne se vide en même temps qu'il se remplit. Il faut aussi un événement permettant à l'air de rentrer et sortir, pour compenser le volume mort laissé par le fluide.

Enfin il reste la détection de « volume rempli » qui doit se faire dans le corps de mesure, et s'affranchir de l'encrassement et l'oxydation liés à la nature du fluide pancréatique. Autant de problèmes à résoudre, que nous reprenons point par point

a. Le volume de mesure

La problématique majeure de ce volume est qu'il doit être considéré comme rempli lorsqu'il est effectivement rempli et ce, quelle que soit sa position. En outre, le volume de mesure doit être d'environ 15µL pour permettre un point de mesure /mn. Nous avons donc utilisé la viscosité du fluide pour résoudre le problème de fonctionnement dans toutes les positions. En effet, en remplaçant le réservoir par un simple morceau de tuyau fin (**Schéma 2**), tous les problèmes étaient résolus. Le fluide, de part sa viscosité et l'étroitesse du tuyau, reste compact dans celui-ci quelle que soit sa position. Ce dispositif résiste aussi assez bien à des chocs et des secousses que le capteur recevrait. D'autre part l'extrémité ouverte du tube permet l'entrée et la sortie de l'air et joue donc le rôle de l'événement. De plus, le petit diamètre du tube permet d'obtenir une longueur de tube suffisamment grande pour y installer le détecteur. Cette idée simple est très facile à réaliser.

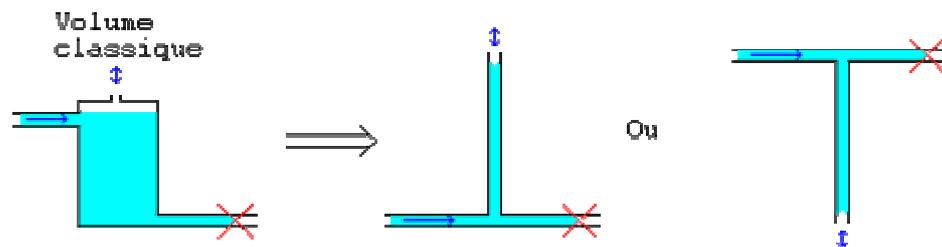


Schéma 2 : Présentation du détecteur de débit volumétrique, insensible à sa position dans l'espace

b. La pompe de vidange (**photo 1**) vide le volume de mesure et réinjecte le flux vers l'intestin. Ses caractéristiques principales sont d'une part qu'elle soit obturante à l'arrêt et, d'autre part qu'elle soit capable d'avoir un débit d'environ 20µl/s.

La première idée fut d'utiliser une micro pompe doseuse (090SP de biochem-valve), capable de débiter 8µL par impulsion ; cette solution n'a pas été retenue car ce type de pompe comporte des clapets d'entrée/sortie qui se seraient obstrués, compte tenu de la nature du flux pancréatique qui contient des particules. Le choix s'est porté sur une micro pompe

péristaltique puisque le flux restait cantonné à l'intérieur du tube (silicone). La seule pompe disponible commercialisée et de taille raisonnable (30/30/90 mm) est un modèle EOM vendu par Harvard Apparatus au prix unitaire de 450 €. Devant ce coup élevé et cette taille un peu trop grande, nous avons conçu et fabriqué avec le lycée professionnel⁴ une pompe pour un coût de revient unitaire de 50 € et dont les dimensions finales 21/21/65 mm correspondent mieux à nos besoins.

Cette pompe (**Photo1**) n'est pas conçue pour pratiquer des dosages et elle est moins précise que les pompes doseuses, mais nous verrons dans le paragraphe 4 « Contrôle et qualité », comment nous avons évalué l'erreur.

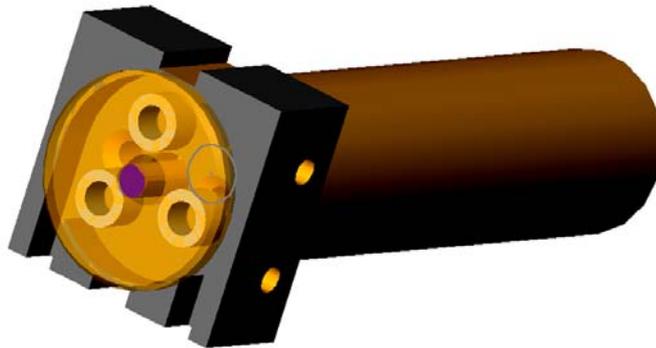


Photo 1 : Pompe de vidange conçue pour ce projet

c. Le circuit de détection (**schéma 3**)

Le flux pancréatique est conducteur d'électricité, nous avons utilisé cette propriété pour détecter la fin de remplissage du volume de mesure. Deux électrodes fabriquées à partir de morceaux d'aiguilles inox sont placées dans le volume de mesure et sont reliées à un mini-circuit électronique. La fonction de ce circuit est de générer un signal modulé sur l'une des électrodes, de démoduler le signal reçu par l'autre électrode, et de détecter ce signal. Lorsque le flux met en contact les deux électrodes, le signal est assez fort pour activer la pompe pendant un temps donné (0,3 s). Cela a pour effet de vider le volume de mesure et d'injecter le flux vers l'intestin.

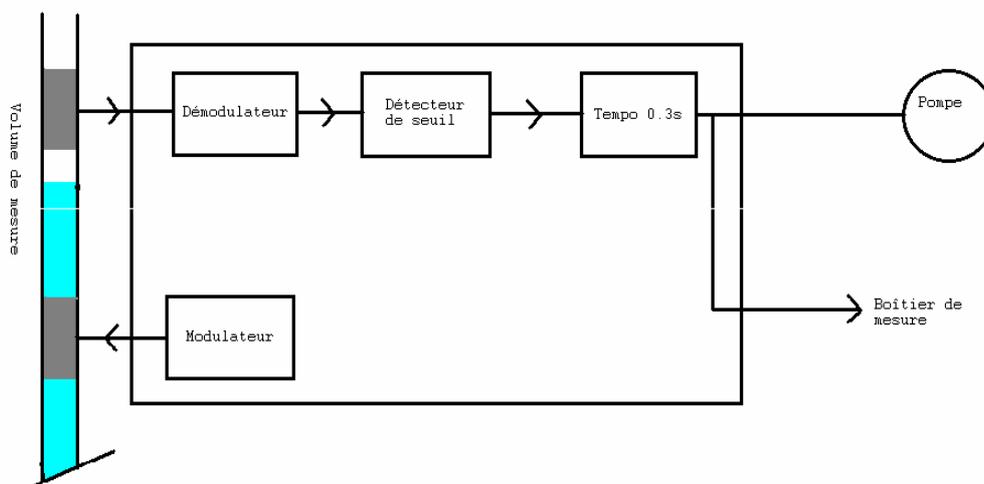


Schéma 3: Circuit de détection

⁴ Lycée Professionnel Laennec Robidou Rennes, BACPRO [Productique mécanique option décolletage](#)

Le signal de détection modulé, évite les problèmes de polarisation d'électrode. La mesure de débit se fait par la mesure du temps que met le volume à se remplir, autrement dit le temps entre deux démarrages de pompe. Le volume vidé étant considéré comme constant (nous verrons dans « Contrôle et qualité » que ce n'est pas exactement vrai) on en déduit le débit. Nous obtenons donc le fonctionnement en trois phases suivant **schéma 4**.

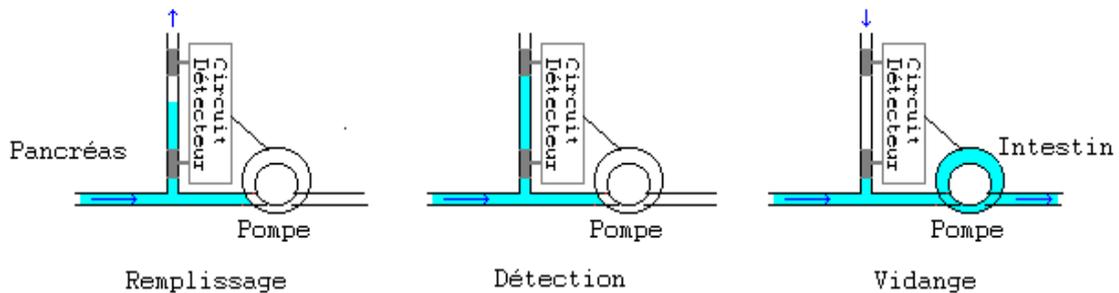


Schéma 4 : Représentation des trois cycles de fonctionnement du capteur
(Ensemble : pompe, volume de mesure, circuit de détection)

d. Détection 1 seuil versus 2 seuils :

Nous avons utilisé une détection de volume n'utilisant qu'un seul seuil contrairement à la méthode habituelle qui utilise 2 seuils, un haut et un bas, pour détecter la fin du remplissage et de la vidange du volume.

Cette méthode à 2 seuils nécessite pour fonctionner, de couper l'arrivée de flux en amont ; ceci afin d'éviter que le flux aspiré par la pompe, provienne du pancréas plutôt que du volume de mesure. Cette option nécessitait donc une électrovanne en plus, donc plus d'encombrement et de poids. Pour cette raison nous avons adopté la méthode à un seuil. Dans ce cas c'est le volume aspiré par la pompe qui définit la référence de volume mesuré. Ce volume, puisque la pompe est activée à temps constant, est vu comme identique et ceci, que le fluide provienne du pancréas ou du volume de mesure. A débit faible, le flux pompé provient exclusivement du volume de mesure. A débit moyen il provient en partie du pancréas et du volume de mesure. A débit élevé, il provient majoritairement du pancréas. La limite de mesure est atteinte lorsque que le débit amont est égal au débit de la pompe ; dans ce cas, elle tourne en continu et il devient alors impossible de mesurer le débit.

2.2 La récupération des échantillons

Il était important pour les scientifiques de récupérer des échantillons de flux, correspondant à une fraction du volume de mesure, afin d'obtenir une image fidèle des concentrations. Nous avons imaginé d'utiliser une électrovanne 2 voies en sortie de la pompe pour diriger une fraction du flux vers le système de récupération (normalement il est envoyé vers l'intestin). Lors des périodes de collecte, la rotation de la pompe pousse une partie du flux vers l'intestin et l'autre partie vers un tube de stockage temporaire. A ce stade, l'échantillon se trouve toujours dans le capteur situé sur l'animal. Il faut donc le transporter vers le boîtier de mesure afin d'obtenir le respect temporel de l'échantillonnage soit en aspirant, soit en poussant l'échantillon. Nous avons abandonné l'aspiration vue la complexité à piéger l'échantillon avant son arrivée à la pompe d'aspiration, et nous avons choisi le système de « pousser ».

Pour pousser l'échantillon, il faut apporter un fluide pousseur au capteur avec une pompe située dans le boîtier externe produit en permanence de l'air comprimé, et qu'elle envoie au capteur, via un petit tube ; Ce dernier est en contact avec une extrémité du tube de stockage temporaire ; l'autre extrémité est reliée à un autre tube qui retourne vers le boîtier externe. Afin d'éviter que l'échantillon n'explode en microgouttes et qu'il reste piégé dans le tube de retour, il faut utiliser des tubes de petit diamètre en Téflon, ainsi qu'une pompe à faible débit d'air pour ne pas pousser trop vite l'échantillon. Nous avons choisi comme pompe le pousse seringue qui, tout en produisant un faible débit, garde une forte pression. L'extrémité du tube de retour plonge dans un réservoir de collecte qui est régulièrement vidé par l'expérimentateur. Il est prévu de piloter, par le boîtier externe, un collecteur à fraction pour effectuer cette tâche de manière autonome.

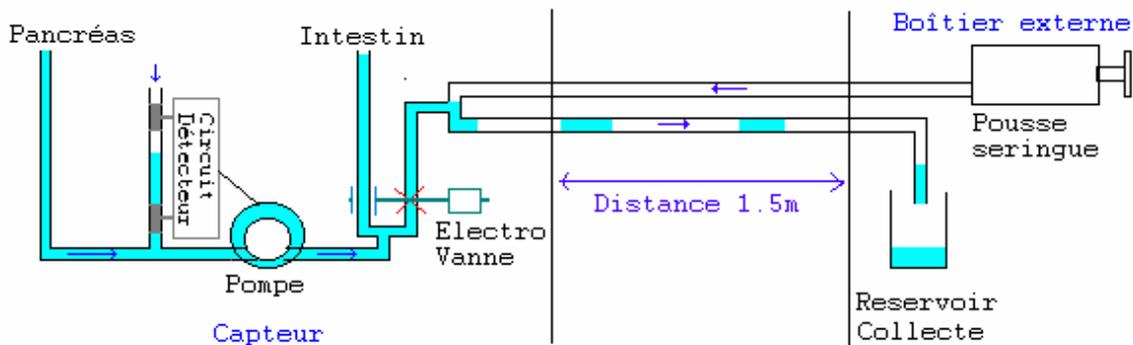


Schéma N°5 : Représentation fonctionnelle du dispositif Capteur-boîtier externe utilisé pour la collecte des échantillons de flux pancréatique.

3. Descriptif technique des constituants du dispositif

3.1. Le capteur

Le fonctionnement du capteur a été décrit dans le chapitre précédent. Il est donc constitué de trois éléments principaux :

- une micro pompe péristaltique,
- une électrovanne pitch miniature 2 voies,
- un mini circuit de détection en composant CMS.

Il faut rajouter à cela des tubes et raccords miniatures utilisés pour la circuiterie.

Le tout tient dans un boîtier 100/50/25 mm, soit un volume équivalent à une grosse boîte d'allumette. Ce boîtier comprend une entrée raccord rapide pour la liaison au cathéter pancréatique. Une sortie raccord rapide pour la liaison au cathéter retour intestin. Il est relié au boîtier externe par un tuyau renforcé (tuyau de douche), dans lequel passe les deux tubes pour la récupération d'échantillon et différents fils électriques permettant le fonctionnement du mini circuit de détection et de commande de l'électrovanne.

Ce boîtier est placé dans la poche d'un harnais fixé sur le corps du porcelet afin de le protéger et d'éviter un arrachage des raccords.

3.2. Le boîtier externe a 3 fonctions principales,

- mesurer le temps entre deux mises en route de la pompe du capteur,
- interpréter les ordres de l'ordinateur (Mesure, collecte, etc.),
- gérer le pousse seringue dans sa mise en marche et ses allers-retours lors de la récupération d'échantillon.

Des voyants permettent à l'opérateur de savoir à tout moment, où en est le processus.

Electroniquement parlant, le boîtier est constitué de 2 cartes électroniques, une pour l'alimentation et une pour la commande, ainsi qu'un pousse seringue.⁵

Cependant, j'aimerais revenir sur le point particulier de la mesure du temps et de sa conversion en débit. Comme je l'ai dit précédemment, un compteur (pas de temps 20 ms) mesure le temps mis entre 2 démarrages de pompes. Ce temps peut donc varier de 57s pour le débit minimum de 1ml/h à 2.7s pour le débit maximum de 20ml/h. De par les variations de temps possibles liées à la variation de débit, il n'est pas envisageable de transmettre une mesure à chaque fois qu'elle est disponible, pour 2 raisons majeures :

- a) Le trafic de données sur le bus commun utilisé pour la transmission vers l'ordinateur ;
- b) Surtout le fait que ces données n'apparaîtraient pas de manière cyclique sur l'ordinateur. Ce qui impliquerait un très complexe traitement de recalage temporel pour obtenir des valeurs de débit ayant un pas de temps linéaire.

Afin de palier à ces problèmes et partant du fait qu'une donnée de débit à la minute était largement suffisante, nous avons choisi la stratégie suivante.

De manière synchrone et avec un pas de temps d'environ 1 minute, l'ordinateur interroge tour à tour les 6 boîtiers externes pour leur demander leurs mesures respectives. A ce stade, soit le boîtier n'a pas réussi à faire de mesure (débit < 1 ml/h et il répond par un code particulier ; soit il a une mesure valide et il envoie cette valeur ; soit il a plusieurs mesures valides (Ex : une vingtaine pour le 20ml/h) et il envoie la moyenne de ces mesures suivi du nombre de mesures effectuées. Ceci afin de pouvoir calculer le volume de flux produit au total /mn.

Les valeurs de temps ainsi reçues, seront converties en débit en divisant le volume calibré par cette valeur.

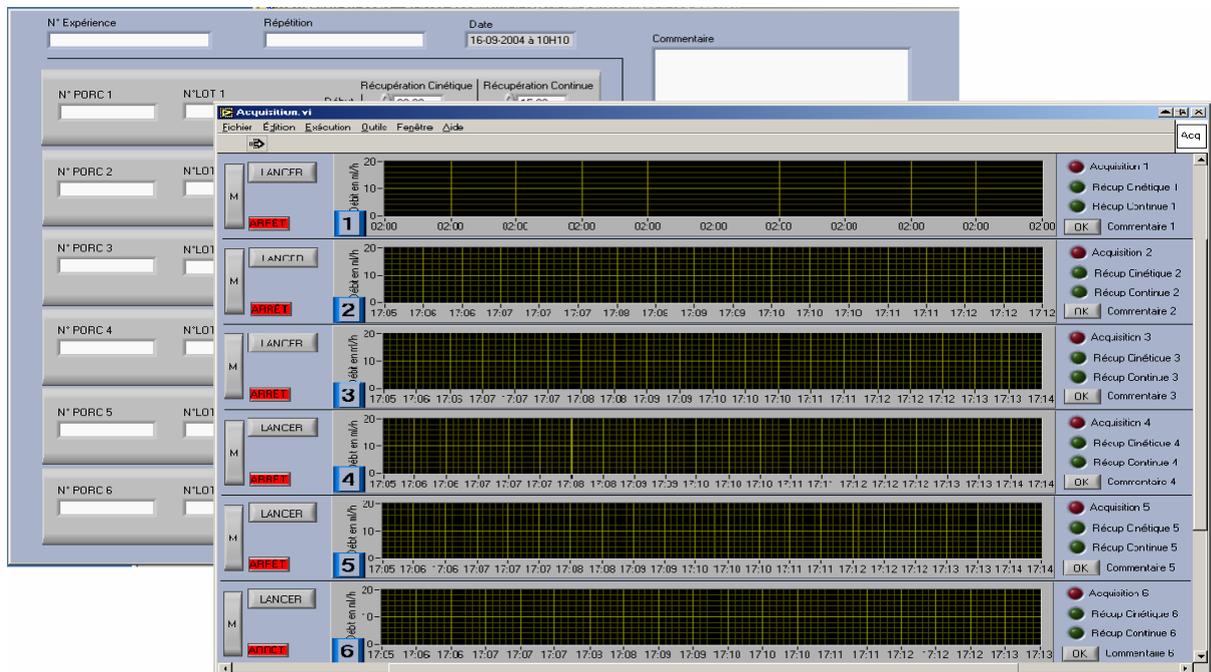


Figure 2 : Fenêtre de paramétrage et d'acquisition du logiciel pilotant les 6 dispositifs de mesure

⁵ le descriptif électronique de ces cartes n'est pas donné ici ; contactez l'auteur pour plus d'information.

3.3. Le logiciel développé sous LabView a pour fonctions principales :

- d'enregistrer et d'afficher les données de débit et volumes mesurés sur une période de plusieurs jours,
- d'activer les différentes collectes d'échantillons à des périodes voulues,
- de sauvegarder des données annexes sur l'expérimentation, ainsi que sur les animaux.

4. Contrôle et qualité

Dans le § 2.1.a. traitant du capteur, nous avons vu qu'un certain nombre de biais peut altérer les mesures. En effet, l'utilisation d'une pompe péristaltique pour mesurer un volume de 15 μ l est un choix qui comporte quelques inconvénients :

- La pompe étant pilotée en temps fixe, peut ne pas aspirer exactement le même volume, d'un capteur à l'autre et, du 1^{er} au dernier jour d'expérimentation. Cela est dû à des facteurs tels que l'écrasement du tube ou une différence de puissance d'un moteur à l'autre.
- La pompe fonctionnant par impulsion de 0,3 s, celle-ci tourne en général 0,75 tours. De par, sa conception (3 galets) on n'obtient pas forcément le même appui à chaque rotation de 075 tours. Le cas extrême minimum étant 2 galets et le cas maximum, 3 galets appuyant sur le tube.

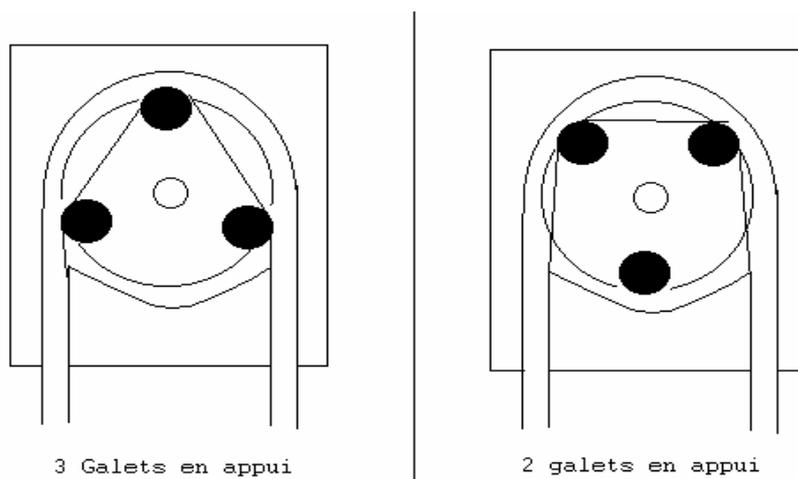


Schéma 6 : Représentation du nombre de galet en appui dans la tête de pompe en fonction de la position de la tête.

Le moyen utilisé pour évaluer ces erreurs est du domaine de la calibration. En effectuant une calibration en début d'utilisation, on détermine le volume moyen du capteur et donc on évalue la marge d'erreur de position de galets. En effectuant une calibration en fin d'utilisation, on détermine un nouveau volume moyen qui tiendra compte à ce moment de l'usure de la pompe (écrasement du tube). Les valeurs obtenues donnent une variation de +/-5% maximum liée à l'erreur des position de galet, +/-10% pour l'usure de la pompe. Cette dernière valeur, peut être compensée par une correction progressive sur les données (en partant du postulat que l'erreur est linéaire).

Pour effectuer ces calibrations, on utilise un pousse seringue pour simuler le pancréas. Le processus se déroule en plusieurs étapes,

- le débit du pousse seringue est contrôlé initialement en le faisant débiter, pendant 5mn, dans un Becher gradué ;
- on recalcule le débit réel en divisant le volume obtenu par le temps de fonctionnement du pousse seringue ;
- on relie le pousse seringue au capteur et on met le dispositif en marche.
- on obtient un tracé ondulant autour d'une valeur moyenne correspondant au débit de moyen obtenu ;
- on corrige la valeur du volume de référence (celui utilisé par le logiciel pour calculer le débit) afin de corriger le débit ;
- on effectue des essais à différentes valeurs de débit pour estimer la linéarité du capteur.

Conclusion

Le dispositif a été utilisé avec succès pendant 4 répétitions de 1 semaine de mesure.

Il permet d'évaluer plus finement le débit pancréatique et de libérer les opérateurs. Ce dispositif pourrait servir à mesurer d'autres sécrétions à débit faible telles que les sécrétions urinaires.