



UNIVERSITÉ DE  
**SHERBROOKE**

**MESURE DU VOLUME PULMONAIRE PENDANT LA  
VENTILATION LIQUIDIENNE TOTALE DANS UN  
MODÈLE EXPÉRIMENTAL OVIN NOUVEAU-NÉ**

Par

**Pamela Samanta Germim**

Programme de physiologie

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé  
en vue de l'obtention du grade de

**Maître ès sciences (M.Sc.) en physiologie (biophysique)**

Sherbrooke, Québec, Canada

Mars 2013

Liste des évaluateurs :

Herve Walti, M.D., Ph.D.M.Sc., Département de pédiatrie, service de néonatalogie  
Jean-Paul Praud, M.D., Ph.D., Département de pédiatrie, service de pneumopédiatrie  
Arnaud Gagneur, M.D, Ph.D., Département de pédiatrie, service de néonatalogie  
Olivier Lesur, M.D, Ph.D., Département de médecine, service de pneumologie

© Pamela Samanta Germim, 2013.



Library and Archives  
Canada

Published Heritage  
Branch

395 Wellington Street  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

Bibliothèque et  
Archives Canada

Direction du  
Patrimoine de l'édition

395, rue Wellington  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

*Your file Votre référence*

*ISBN: 978-0-499-00350-8*

*Our file Notre référence*

*ISBN: 978-0-499-00350-8*

#### NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

#### AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

---

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.

Canada

# **Mesure du volume pulmonaire pendant la ventilation liquidienne totale dans un modèle expérimental ovin nouveau-né.**

Par

Pamela Samanta Germim  
Programme de physiologie

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé  
en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.) en physiologie  
(biophysique), Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke,  
Sherbrooke, Québec, Canada, J1H 5N4

La ventilation liquidienne totale (VLT) est une modalité de support respiratoire qui consiste à remplir les poumons avec du perfluorocarbone (PFC) et un ventilateur liquidien assure le renouvellement du volume courant. Par contre, une quantité excessive de PFC dans les poumons peut causer une distension ou un perfluorothorax, et une trop petite quantité peut entraîner un collapsus lors de l'expiration. Ainsi, ce volume doit être bien contrôlé. Notre objectif est de mesurer le volume de PFC en continu dans les poumons pendant la VLT afin d'optimiser sa fiabilité et sécurité. Trois approches différentes ont été utilisées : une balance de précision, le réservoir tampon du ventilateur et un débitmètre branché entre le ventilateur et le sujet. De plus, une courbe pression-volume statique a été tracée afin d'évaluer la possibilité d'une surdistension pulmonaire. Ces techniques ont été réalisées à l'aide du ventilateur liquidien Inolivent-5, prototype de ventilateur liquidien total mis au point par l'équipe Inolivent. Six agneaux sains, (< 5 jours, poids entre 2 et 4 kg) ont été anesthésiés et installés sur la balance. Ensuite, ils ont été branchés en ventilation mécanique conventionnelle (VMC) afin de recueillir les paramètres physiologiques de base. Une couverture a été mise sur les animaux pour diminuer les pertes insensibles par la peau. Après 30 minutes en VMC, les agneaux ont été installés en VLT, où ils sont demeurés pour 4 heures. Les paramètres physiologiques ont été analysés à chaque heure et un bilan précis des ingesta et excréta a été réalisé. Le débitmètre ne nous permet pas d'estimer le volume pulmonaire au cours de la VLT. Par contre, la fiabilité des mesures de la balance et du réservoir tampon a été estimée ( $0,8 \leq r^2 \leq 0,9$ ) et l'accord relatif démontre que pour environ 95% des cas, la mesure du poids de l'agneau obtenue par la balance sera comprise entre 1.04 et 3.28 fois la mesure obtenue par le réservoir tampon. La mesure de la compliance du système respiratoire, à partir des courbes P-V nous a permis d'identifier une surdistension pulmonaire lors des variations de volume imposées et le coefficient de corrélation de Spearman ( $> 0,91$ ) démontre la force de corrélation entre le  $\Delta P$  et le  $\Delta V$ , qui caractérisent l'élasticité pulmonaire. Ces résultats suggèrent que d'autres études sont encore nécessaires pour que nous puissions avoir une mesure fiable du volume pulmonaire au cours de la VLT.

**Mots clés :** Agneau, nouveau-né, ventilation liquidienne totale, perfluorocarbones.

## **Dédicace**

À mes grands-parents.

À mon père Antonio, à ma mère Marinalva et à mon frère Eros.

## Épigraphe

De tout, il reste trois choses:

La certitude que nous sommes toujours des débutants,

La certitude qu'il faut continuer,

La certitude que nous allons être interrompus avant la fin.

Ainsi, nous devons

Faire de l'interruption un nouveau chemin.

De la chute, un pas de danse.

De la peur, une échelle.

Du rêve, un pont.

De la recherche, une rencontre.

FERNANDO SABINO

## Table des matières

Dédicace.....	III
Épigraphe.....	IV
Table des matières.....	V
Liste des tableaux.....	VIII
Liste des abréviations.....	IX
1. Introduction.....	10
1.1 Mise en Contexte de la ventilation liquidienne.....	10
1.2 Types de VL.....	13
1.3 Contrôle de la VL.....	15
1.4 Contrôle du volume pulmonaire pendant la VL.....	16
1.5 Prototypage Inolivent – 5.....	18
1.6 Paramètres ventilatoires.....	22
1.6.1 Volumes et capacités respiratoires.....	22
1.6.2 Élasticité et résistance du système respiratoire.....	22
1.6.3 Contexte de l'étude.....	24
1.6.4 Objectifs de l'étude.....	25
2. Matériel et méthodes.....	26
2.1 In vitro.....	26
2.1.1 Validation de la balance de précision.....	26
2.1.2 Réservoir tampon.....	26
2.1.3 Débitmètre.....	26
2.2 In vivo.....	28
2.2.1 Population à l'étude.....	28
2.2.2 Conception de l'étude.....	28
2.2.3 Ventilation liquidienne totale.....	31
2.2.4 Méthodes d'estimation du volume pulmonaire.....	34
2.2.4.1 Variation du poids de l'agneau.....	34
2.2.4.2 Niveau du réservoir tampon.....	36
2.2.4.3 Débitmètre.....	38
2.2.4.4 Mesure des variations de la compliance du système respiratoire.....	38
2.2.4.5 Analyse des courbes pression-volume.....	39
2.3 Analyses statistiques.....	40
3. Résultats.....	42
3.1 In vitro.....	42
3.1.1 Validation de la balance de précision.....	42
3.1.2 Validation du réservoir tampon par VLT sur un ballon.....	42
3.1.3 Débitmètre.....	43
3.2 Expérimentations in vivo.....	44
3.2.1 Indices hémodynamiques et ventilatoires.....	44
3.2.2 Pertes insensibles.....	46
3.2.3 Réservoir tampon et balance de précision.....	48
3.2.4 Mécanique du système respiratoire.....	51
4. Discussion.....	56

4.1	Indices hémodynamiques et ventilatoires .....	56
4.2	Pertes insensibles.....	57
4.3	Méthodes d'estimation du volume pulmonaire.....	59
4.3.1	Débitmètre .....	59
4.3.2	Réservoir tampon et balance de précision.....	59
4.3.3	Analyse des courbes pression-volume .....	60
4.1	Les limites de l'étude .....	62
5.	Conclusions et perspectives .....	63
6.	Remerciements.....	65
7.	Références.....	66

## Liste des figures

Figure 1 : Prototype Inolivent-5.....	20
Figure 2 : Schéma du prototype Inolivent-5 .....	21
Figure 3 : Courbe P-V du système respiratoire en ventilation mécanique .....	24
Figure 4 : Pièce en « Y » contenant le débitmètre .....	27
Figure 5 : Ligne du temps d'une journée d'expérimentation.....	28
Figure 6 : Schéma du contrôle respiratoire par le prototype Inolivent-5.....	33
Figure 7 : Balance de précision utilisée dans les expérimentations.....	34
Figure 8 : Vue de la fenêtre du logiciel utilisé pour mesurer les variations de poids de l'agneau.....	35
Figure 9 : Schéma du capteur de niveau installé à l'intérieur du réservoir tampon.....	40
Figure 10 : Identification de la phase test avec la variation de la PEEP (étages de 1, 5 et 10 cmH20) au long de l'expérimentation .....	39
Figure 11 : Figure représentative de l'ajustement des capteurs de tensions de la balance de précision.....	42
Figure 12 : Courbe du volume pulmonaire calculé (VpulCal) et du poids de la balance <i>in vitro</i> .....	43
Figure 13 : Comparaison du volume de liquide mesuré au niveau des pompes (inspiratoire et expiratoire) <i>versus</i> le volume mesuré par le débitmètre au cours du temps .....	44
Figure 14 : Variation du poids de 3 agneaux dans le temps .....	47
Figure 15 : Régression linéaire entre le Vpulmonaire et le poids de la balance $\pm 2$ écarts-types .....	50
Figure 16 : Test de Bland-Altman .....	51
Figure 17 : Variation des pressions (PEEP) de l'agneau 5.....	54
Figure 18 : Courbes pression-volume du système respiratoire .....	55



## Liste des tableaux

Tableau 1 : Propriétés physicochimiques des liquides PFC .....	11
Tableau 2 : Caractéristiques générales des animaux.....	44
Tableau 3 : Paramètres physiologiques de base en VMC pour les 6 agneaux.....	45
Tableau 4 : Résultats des gaz du sang en VLT dans chaque intervalle de temps pour les 6 agneaux .....	45
Tableau 5 : Paramètres ventilatoires de base en VMC pour les 6 agneaux .....	46
Tableau 6 : Paramètres ventilatoires en VLT dans chaque intervalle de temps .....	46
Tableau 7 : Humidité et température de la pièce à chaque expérimentation .....	47
Tableau 8 : Variation de poids de trois agneaux par heure, présentée en pourcentage ....	47
Tableau 9 : Pente de la corrélation entre $V_{\text{pulmonaire}}$ calculé et poids mesuré par la balance chez chaque agneau .....	48
Tableau 10 : Coefficient de corrélation et pente entre la différence et la moyenne du $V_{\text{pulmonaire}}$ calculé et poids mesuré par la balance par agneau .....	49
Tableau 11 : Mesure de la compliance du système respiratoire, 1 <sup>er</sup> essai .....	52
Tableau 12 : Mesure de la compliance du système respiratoire, 2 <sup>ème</sup> essai .....	52
Tableau 13 : Coefficient de corrélation de Spearman entre le $\Delta P$ et $\Delta V$ pour chaque agneau à l'inspiration et à l'expiration.....	53

## Liste des abréviations

CHUS	Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke
CO <sub>2</sub>	Dioxyde de carbone
CRF	Capacité résiduelle fonctionnelle
ET	Écart-type
FiO <sub>2</sub>	Fraction inspirée d'oxygène
FR	Fréquence respiratoire
IWL	Pertes insensibles d'eau (« insensible water loss »)
O <sub>2</sub>	Oxygène
PEEP	Pression positive à la fin de l'expiration
PFC	Perfluorocarbone
P-V	Courbe Pression-volume
SaO <sub>2</sub>	Saturation de l'hémoglobine en oxygène
Ti	Temps inspiratoire
TOF	Technique des oscillations forcées
VCRP	Ventilation contrôlée à régulation de pression
VG	Ventilation gazeuse
VL	Ventilation liquidienne
VLP	Ventilation liquidienne partielle
VLT	Ventilation liquidienne totale
VM	Ventilation mécanique
VMC	Ventilation mécanique conventionnelle
Vpulm	Volume pulmonaire
VR	Volume résiduel
VRE	Volume de réserve expiratoire
Vt	Volume courant

# 1. INTRODUCTION

## *1.1 Mise en Contexte de la ventilation liquidienne*

Malgré les progrès réalisés dans les dernières décennies, la mortalité et la morbidité des syndromes de détresse respiratoire aiguë (SDRA) restent élevées. C'est dans le contexte de recherche d'un support respiratoire alternatif à la ventilation gazeuse (VG) que la ventilation liquidienne (VL) a été proposée (Kaushal et al., 2013). La VL est une modalité expérimentale de support respiratoire qui consiste à remplir les poumons avec un liquide pour assurer les échanges gazeux en lieu et place de l'air (Kallas, 1998). De ce fait, elle a été étudiée comme traitement potentiel pour de nombreuses maladies respiratoires et est le sujet de plusieurs articles récents (Pohlmann et al., 2011; Tsagogiorgas et al., 2011; Avoine et al., 2011).

Les premières tentatives d'utiliser un liquide (solution saline), en tant que milieu échangeur de gaz, requéraient des conditions hyperbares pour obtenir des gaz du sang raisonnables (Kylstra et al., 1966). En 1966, Clark a cependant démontré que les souris respirant spontanément pouvaient survivre lorsqu'elles étaient immergées dans les hydrocarbures perfluorés en conditions normobares. Ainsi, la respiration liquide a été décrite (Clark et Gollan, 1966). L'immersion totale a été utilisée comme technique respiratoire et les animaux survivaient pendant plusieurs heures, si le liquide était oxygéné en permanence. Cependant, l'augmentation du travail respiratoire les conduisait à une fatigue des muscles respiratoires ultimement mortelle. Une autre technique ancienne est la ventilation liquidienne assistée par gravité, qui apportait un volume courant ( $V_t$ ) de liquide oxygéné à partir d'un réservoir vers les poumons des animaux intubés. Aucune de ces méthodes ne s'est avérée suffisante pour permettre la ventilation prolongée (Shaffer et al., 1999).

Peu de liquides ont la capacité de transporter de l' $O_2$  et du  $CO_2$  – en dehors des huiles de silicone et des perfluorocarbones (PFCs). Clark et Gollan (1966) ont immergé complètement des petits mammifères dans les huiles de silicone et les PFCs. Comme les huiles de silicone se sont avérées toxiques, il ne restait que les PFCs comme possibilité (Shaffer et al., 1992). Les PFCs utilisés lors de la VL sont des composés organiques dans

lesquels tous les atomes d'hydrogène ont été remplacés par des atomes d'une molécule halogène, généralement le fluor. Ces fluides sont chimiquement stables, incolores, inodores et insolubles dans l'eau (Shaffer et al., 1999). Les propriétés physico-chimiques des liquides PFC varient, dû en partie à l'arrangement des liaisons carbone-fluor (Sargent and Seffl, 1970; Moore and Jr, 1985; Riess, 1984) (tableau 1). Certaines de ces propriétés, comme la solubilité des gaz, influence la quantité et la diffusivité des gaz dans le PFC; d'autres, comme la pression de vapeur, la tension de surface, le coefficient d'étalement et la densité, influencent la façon dont le PFC circule dans le poumon; d'autres enfin, le coefficient de partage (log P) et la liposolubilité, influencent la biodistribution du PFC (Wolfson et al., 1998).

Tableau 1 – Propriétés physicochimiques des liquides PFC

Propriété	Intervalle	Unités
<b>Solubilité des gaz (37° C; 1ATM)</b>		
Oxygène	33 – 66	mL/100 mL PFC
dioxyde de carbone	140 – 210	mL/100 mL PFC
<b>Coefficient de diffusion (37° C; 1ATM)</b>		
Oxygène	2 – 5,8 x 10 <sup>-5</sup>	cm <sup>2</sup> /sec
dioxyde de carbone	1,1 – 1,3 x 10 <sup>-5</sup>	cm <sup>2</sup> /sec
<b>Pression de vapeur (37° C; 1ATM)</b>		
	0,2 – 400	mmHg
<b>Tension de surface (25° C; 1ATM)</b>		
	13,6 – 18	dynes/cm
<b>Coefficient d'étalement</b>		
	2,0 – 4,5	dynes/cm
<b>Densité (25° C; 1ATM)</b>		
	1,58 – 2,02	g/mL
<b>Viscosité cinématique</b>		
	0,8 – 8	cS
<b>Coefficient de partage (log P)</b>		
	6,1 – 9,7	sans dimension
<b>Liposolubilité (37°)</b>		
	0,14 – 1,7	µg PFC/mg lipide/mmHg

Données basées sur une étude de 18 liquides PFC. Adapté de Wolfson et al., 1998.

En général, les liquides PFCs présentent une solubilité pour les gaz respiratoires très élevée, une faible tension de surface et des propriétés cytoprotectrices et anti-inflammatoires qui permettent les échanges gazeux à des pressions de ventilation basses, tout en protégeant les poumons des baro et volotraumatismes et de l'inflammation. Ces

caractéristiques peuvent favoriser la résolution des lésions pulmonaires et améliorer les résultats à long terme (Pohlmann et al., 2011; Avoine et al, 2011).

Une solubilité pour les gaz respiratoires exceptionnellement élevée, puisque les PFC peuvent dissoudre environ 50 mL O<sub>2</sub>/dL et 160–210 mL CO<sub>2</sub>/dL, est la caractéristique la plus importante de ces liquides (Hirschl, 2004). Il existe sur le marché plus de 100 différents types de liquide PFC, cependant ceux qui répondent à la fois aux exigences des propriétés et des caractéristiques physico-chimiques de pureté pour les applications respiratoires sont rares (Shaffer et al., 1999). Dans les applications médicales, en plus d'être utilisés comme un support respiratoire, les PFCs sont étudiés comme agents de contraste pour la tomodensitométrie et l'imagerie par résonance magnétique, comme agents sensibilisants pendant la radiothérapie, comme liquides de remplacements dans les chirurgies ophtalmologiques, ou comme agents immuno-modulateurs (Lowe, 2000).

Une autre caractéristique importante du PFC est la pression de vapeur. Les études montrent que la plupart des PFCs ont une plus grande pression de vapeur que l'eau et s'évaporent plus rapidement à la température du corps. Les études s'intéressant à l'absorption des PFCs après la VL ont montré de très faibles niveaux de PFC dans le sang et les tissus. Les études les plus récentes rapportent des concentrations considérées comme non-toxiques de PFC inférieures à 5,8 mcg/mL de sang. Les concentrations tissulaires étaient simultanément PFC et organe-dépendant, avec les niveaux les plus bas dans le foie et les plus hauts dans les poumons et le tissu adipeux. Hors du poumon et de la graisse, les concentrations tissulaires étaient inférieures à 250 µg/g de tissu après 24 heures de VL. Le PFC n'est pas métabolisé et est éliminé par évaporation lors de l'expiration ou de la transpiration à travers la peau (Shaffer et al., 1999).

Le PFC idéal pour la VL doit avoir: (i) une grande solubilité pour l'O<sub>2</sub> et le CO<sub>2</sub>, pour permettre des échanges gazeux normaux; (ii) une plus grande densité que les fluides corporels, afin qu'il descende vers les régions dépendantes des poumons en réouvrant les zones d'atélectasie; (iii) une faible tension de surface pour compenser le déficit en

surfactant et améliorer la compliance pulmonaire (Kaisers et al., 2003); (iv) être inerte, non métabolisé et éliminé par évaporation lors de l'expiration ou de la transpiration à travers la peau (Shaffer et al., 1999); et (v) avoir une volatilité suffisante pour permettre l'élimination dans un délai acceptable (Kaisers et al., 2003). C'est le cas du le perfluorocetylebromide (PFOB), qui sera utilisé dans les expérimentations précliniques décrites dans ce mémoire et qui a par ailleurs déjà été utilisé en VL chez l'humain.

## *1.2 Types de VL*

Il existe actuellement deux formes « classiques » de VL : partielle et totale (Wolfson et al., 1998). Dans la ventilation liquidienne partielle (VLP), les poumons sont tout d'abord partiellement remplis avec du PFC préalablement oxygéné, d'un volume mesuré ou estimé égal à la capacité résiduelle fonctionnelle (CRF); les poumons sont ensuite ventilés à l'aide d'un ventilateur gazeux classique. Lors de la ventilation liquidienne totale (VLT), les poumons sont totalement remplis de PFC et ventilés avec un  $V_t$  de PFC en utilisant un ventilateur dédié (Micheau et al., 2011).

La VLP ainsi que la VLT permettent une amélioration des échanges gazeux à une pression d'insufflation réduite par rapport à la VMC. Les avantages de la VLT comprennent l'absence complète d'interface air-liquide au niveau des voies aériennes, ce qui améliore le recrutement alvéolaire et la compliance pulmonaire en comparaison avec la ventilation mécanique conventionnelle (VMC) et la VLP, particulièrement dans les poumons malades (Hirschl et al., 1996). L'augmentation de la compliance réduit ainsi les pressions d'insufflation nécessaires (Wolfson & Shaffer, 2005).

Une étude réalisée chez l'agneau prématuré atteint du syndrome de détresse respiratoire (SDR) et traité avec la VLP montre que, bien que l'histologie des poumons soit améliorée par rapport à la VMC, il existe une expansion alvéolaire non homogène persistante dans les régions non-dépendantes, contrairement à la tendance homogène retrouvée en VLT. Ces résultats ont été corroborés en radiologie, ainsi que par la mesure

de concentrations régionales différentes de PFC dans les poumons. (Wolfson et al., 2005).

De nombreuses études chez l'animal ont comparé la VLP et la VLT (Wolfson and Shaffer, 2005) ou la VL et la ventilation gazeuse (VG) (Mantell et al., 2002). Par exemple, une étude a comparé le traitement du syndrome d'aspiration méconiale aiguë dans 3 groupes d'agneaux nouveau-nés : i) VMC et lavage avec surfactant exogène (4 mL/kg); ii) VLT et iii) VLP (30 mL/kg). Les animaux ayant reçu la VLT et la VLP avaient une augmentation significative de la  $PaO_2$  et une baisse significative de la  $PaCO_2$ . Bien que la compliance était augmentée dans les groupes VLT et VLP par rapport au groupe contrôle (en VMC), l'augmentation était plus marquée dans le groupe VLT. De plus, l'histologie pulmonaire du groupe VLT a démontré clairement que l'épithélium alvéolaire était intact et l'expansion alvéolaire homogène, ce qui n'était pas évident dans les autres groupes (Foust et al., 1996).

Tooley et al. (1996) ont démontré la plus grande capacité de la VLT, par rapport à la VMC, à recruter les régions pulmonaires collabées dans un modèle pulmonaire d'atélectasie de petits animaux *ex vivo*. Le volume pulmonaire de fin d'expiration, dans ce modèle d'atélectasie à poumons sains, a augmenté 8 fois plus pendant la VLT que la VMC. De plus, chez les animaux avec un déficit en surfactant, cette augmentation était 14 fois plus importante.

La première étude en clinique de VL a été réalisée en 1989 chez 7 nouveau-nés avec détresse respiratoire réfractaire à tout traitement alors disponible. Cette étude non contrôlée représente une étape importante non seulement parce qu'elle constitue la première application de VLT chez les humains, mais aussi parce qu'elle a retrouvé une amélioration de l'oxygénation et de la mécanique respiratoire comparable à celle des études précliniques chez l'animal. Un essai clinique subséquent, non-contrôlé, utilisant le liquide perfluorocetyl bromide (LiquiVent, Alliance Pharmaceutical Corp), en VLP chez les nourrissons prématurés avec SDR a confirmé ces résultats (Hirschl et al., 1998).

À la fin des années 1990, la compagnie Alliance Pharmaceutical Corp a mené des essais cliniques de phase 2-3 en VLP avec le LiquiVent pour le traitement du SDRA chez l'adulte. En mai 2001, l'entreprise a annoncé les résultats préliminaires obtenus chez 311 patients adultes dans 56 hôpitaux aux Etats-Unis, en Europe et au Canada. L'hypothèse était que la VLP avec LiquiVent pourrait apporter un bénéfice clinique supplémentaire à une VMC dite « protectrice » (faible volume courant). Ceci n'a pas été confirmé, le taux de mortalité étant comparable entre les patients du groupe VLP (19%) et du groupe VMC (15%). Les résultats de cette étude chez l'adulte ont donc suggéré que la VLP ne fournit pas d'avantages supplémentaires par rapport aux stratégies de VMC protectrice déjà décrites dans le traitement du SDRA de l'adulte (Hirschl et al., 1998). La conséquence a été l'absence de tout essai clinique de VLP depuis cette date. De plus, les essais cliniques de VLT restent impossibles à réaliser en raison de la non-disponibilité d'un ventilateur liquidien total ayant les exigences requises pour utilisation en clinique

En résumé, les résultats disponibles des essais contrôlés randomisés ne permettent pas de soutenir ou réfuter l'utilisation de la VLP chez les enfants avec SDRA, en raison des limitations liées à ces essais. Des essais contrôlés randomisés, suffisamment puissants, de grande qualité, restent nécessaires pour évaluer son efficacité. Surtout, les études animales suggérant une supériorité de la VLT sur la VLP justifient le travail de l'équipe Inolivent pour développer un ventilateur liquidien total qui aura les exigences requises pour utilisation chez l'humain. Ce ventilateur Inolivent suit les différentes étapes de maturation technologique et de validation depuis plus de 10 ans chez les agneaux nouveau-nés.

### **1.3            *Contrôle de la VL***

En ventilation mécanique gazeuse classique contrôlée à pression positive (VMC) , la pression transpulmonaire positive génère le débit inspiratoire qui surmonte l'élasticité, la résistance à l'écoulement et les propriétés d'inertie du système respiratoire, afin de



générer le  $V_t$  inspiratoire désiré. Par opposition à l'inspiration, l'expiration est passive. Les propriétés élastiques des voies respiratoires sont suffisantes pour expulser le  $V_t$  expiratoire des poumons. Lors de la phase expiratoire, une pression positive à la fin de l'expiration (appelée PEEP) est généralement maintenue dans les voies aériennes (Chatburn & Jr, 2001).

Shaffer et Moskowitz, en 1974, ont été les premiers à documenter le concept de la VL contrôlée-régulée, afin d'améliorer la technique dans les expérimentations animales. Cette méthode est basée sur le contrôle cyclique du liquide oxygéné, le contrôle du  $V_t$  et le caractère actif de l'inspiration et de l'expiration (Shaffer and Moskowitz, 1974). Les premières expériences avec ce type de ventilation ont montré une oxygénation efficace et une meilleure élimination du  $\text{CO}_2$  (Shaffer et al., 1999). Le contrôle actuel de la VLT est similaire à celui décrit pour la VL, et la délivrance optimale du  $\text{CO}_2$  est obtenue quand la ventilation est réalisée à une fréquence de 4-5 respirations/minute (Koen et al., 1988). Les volumes courants typiques sont de l'ordre de 15-20 mL/kg (Hirschl, 2004).

#### ***1.4            Contrôle du volume pulmonaire pendant la VL***

Contrôler étroitement le volume pulmonaire pendant la VLT est crucial pour éviter collapsus expiratoire et surdistension pulmonaire. Plusieurs systèmes de VLT ont été décrits dans la littérature avec cet objectif. En 1966, Kylstra et al. ont utilisé l'enregistrement continu du poids de l'animal pour maintenir et ajuster manuellement la CRF et le  $V_t$  (Kylstra et al., 1966). En 1976, Shaffer et al. ont réintroduit une balance de précision pour mesurer les changements du poids des animaux, permettant à la fois la surveillance du  $V_t$  et de la CRF (Shaffer et al., 1976). Hirschl et al. (1995), ont introduit l'idée de surveiller le  $V_t$  en mesurant en continu le poids du liquide du réservoir de PFC dans le ventilateur au lieu de mesurer le poids de l'animal. Dans des études les plus récentes, le  $V_t$  a été monitoré par les variations du poids de l'animal et/ou les changements du poids du réservoir de PFC et de l'échangeur de gaz pendant le cycle

respiratoire (Stavis et al., 1998). Cependant, à ce jour, aucune équipe de recherche n'est arrivée à mesurer le volume total de PFC lors de la VLT sur une longue période de façon fiable et précise.

Comme en VMC, la connaissance de la mécanique respiratoire au cours de la VLT est d'un grand intérêt, étant donné qu'elle offre de précieux renseignements sur l'état pulmonaire et la physiopathologie des maladies sous-jacentes. Ainsi, la connaissance de la mécanique respiratoire aide les cliniciens à optimiser la ventilation, suivre la progression du traitement, planifier le sevrage et prévenir les complications iatrogéniques (Grinnan and Truwit, 2005; Pelosi and Gattinoni, 2000). La VLT ne se résume pas à remplacer de l'air par un liquide, car le PFC est 2000 fois plus dense que l'air et plus visqueux (Wolfson et al., 1998). Actuellement, les chercheurs et cliniciens surveillent particulièrement le volume intrapulmonaire de PFC en raison i) du risque de baro et volutraumatisme, qui peut résulter en perfluorothorax (présence de liquide dans l'espace pleural) et en lésion pulmonaire chronique; ii) des effets délétères de la distension alvéolaire sur l'hémodynamique, par compression des capillaires alvéolaires et, comme conséquence, l'augmentation de la résistance artérielle pulmonaire, la diminution du retour veineux et du débit cardiaque. De ce fait, il est important de suivre le volume pulmonaire en continu.

Les caractéristiques principales d'un ventilateur liquidien ont été bien décrites (Costantino et al., 2009). Différents types de ventilateurs ont été développés pour les expérimentations animales (Baba et al., 1996; Heckman et al., 1999; Larrabe et al., 2001; Parker et al., 2009; Micheau et al., 2011). La mise au point des mesures de la mécanique et du volume pulmonaire en continu au cours de la VLT est un objectif essentiel dans la conception d'un ventilateur liquidien. En effet, une quantité excessive de PFC dans les poumons peut causer une distension sévère et entraîner un perfluorothorax. Au contraire, une trop petite quantité de PFC dans les poumons peut entraîner un collapsus pulmonaire à l'expiration, empêchant des échanges gazeux efficaces.

On peut estimer la quantité de PFC dans les poumons pendant la VLT par deux types de technique. Les premières consistent à mesurer le volume exact de PFC dans les poumons, en mesurant la variation du poids de l'animal en continu au cours de la VLT. De façon similaire, Shaffer et al. (1999) ont rapporté que le volume de PFC peut être estimé en soustrayant, du volume initial de PFC dans le circuit du ventilateur avant le début de la VLT, le volume de liquide mesuré au niveau du ventilateur à un instant donné: le résultat est censé être égal au volume pulmonaire de PFC à cet instant. Un prototype (Inolivent-5, développé par notre équipe) comprend cette estimation et permet également de compenser la mesure pour l'évaporation du PFC dans le ventilateur. Une autre approche consiste, non à mesurer directement le volume pulmonaire, mais à estimer les conséquences de la variation du volume pulmonaire de PFC par l'analyse des paramètres de la mécanique pulmonaire. Cela peut être réalisé en suivant en continu au cours de la VLT les variations de la compliance quasi-statique du système respiratoire à partir de courbes pression-volume (P-V).

### ***1.5 Prototype Inolivent – 5***

Le prototype Inolivent-5 (figure 1) fonctionne en circuit fermé. Il est composé d'un réservoir, de deux pompes à piston (une inspiratoire et l'autre expiratoire), d'un filtre, d'un oxygénateur et d'un condenseur. Quatre valves contrôlent le passage du liquide vers les pompes, et un connecteur en « Y » est placé à l'entrée du tube endotrachéal du patient. Un débitmètre est placé à l'intérieur du connecteur en « Y ».

Après le remplissage en circuit fermé du circuit du ventilateur, le PFC, oxygéné et réchauffé au niveau de l'unité d'oxygénation et de réchauffement, est poussé par débordement vers le réservoir tampon, puis prélevé par la pompe inspiratoire et poussé dans les poumons pour débiter un cycle respiratoire. Après avoir contribué aux échanges gazeux, il ressort vers la pompe d'expiration. Enfin, le PFC est filtré et retourné à

l'oxygénateur, où il est ré-oxygéné et débarrassé de son  $\text{CO}_2$ . Le condenseur, situé à la partie supérieure de l'oxygénateur, minimise les pertes par évaporation.

Le  $V_t$  et les paramètres de temps, soit le temps inspiratoire ( $T_i$ ) et la fréquence ( $Fr$ ), limitent le cycle. La pause inspiratoire est utilisée pour mesurer la pression positive à la fin de l'inspiration (PEIP) et la pause expiratoire, la PEEP. La durée de chaque pause est proportionnelle à la longueur de chaque phase (figure 6). Les limites de pression supérieure et inférieure arrêtent la phase correspondante, en évitant que les pressions des voies aériennes dépassent ces valeurs. Le contrôleur de la PEEP utilise la valeur de la « PEEP référence », réglée par le clinicien, pour faire les corrections dans les volumes inspiré et expiré (Micheau et al., 2011).

Le connecteur en Y (figure 2) relie la tubulure du ventilateur à la sonde endotrachéale. Elle possède une valve mécanique de 3 voies qui permettent la sélection entre les circuits : VMC, VLT ou fermé. Un cathéter inséré dans le tube endotrachéal via le connecteur en Y du ventilateur liquidien, et relié à un capteur de pression dans le prototype Inolivent-5, permet de suivre en continu la pression trachéale et de mesurer la PEEP et la PEIP. Les capteurs sont reliés à une unité de contrôle en temps réel. L'interface de l'utilisateur est un PC à écran tactile qui communique avec l'unité de commande en temps réel (Micheau et al., 2011).

### Prototype Inolivent-5

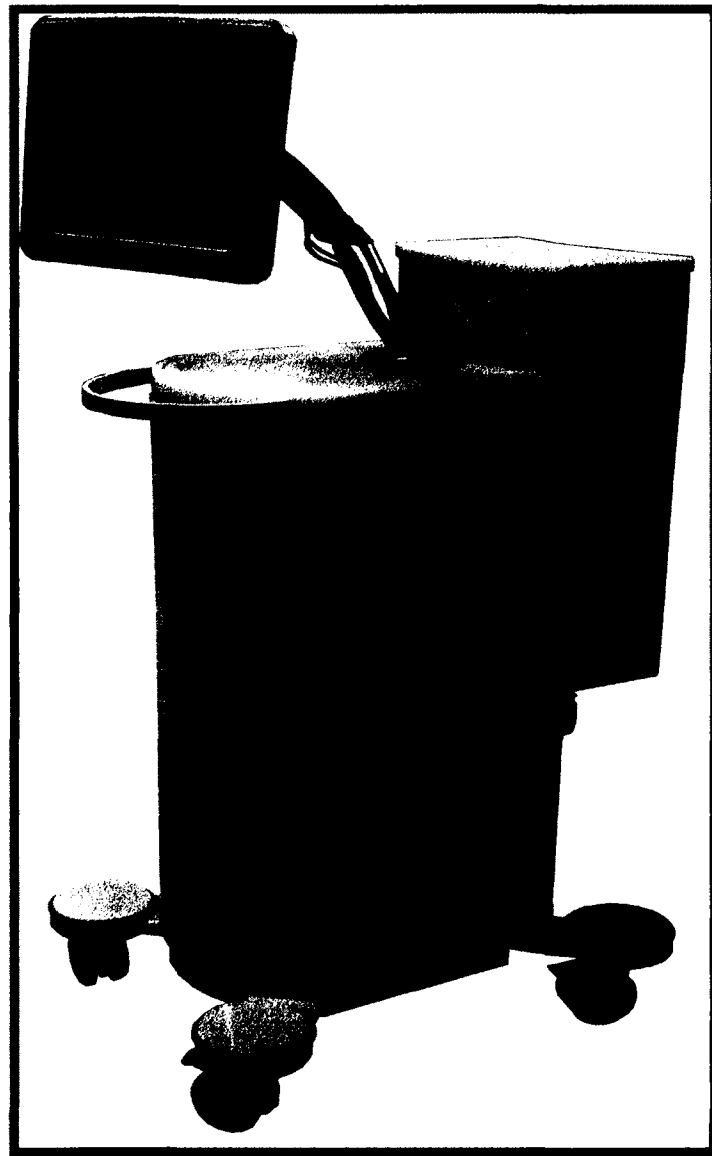


Figure 1 – Prototype Inolivent-5 développé à l'Université de Sherbrooke par les ingénieurs de la faculté de génie mécanique.

## Schéma du prototype Inolivent-5

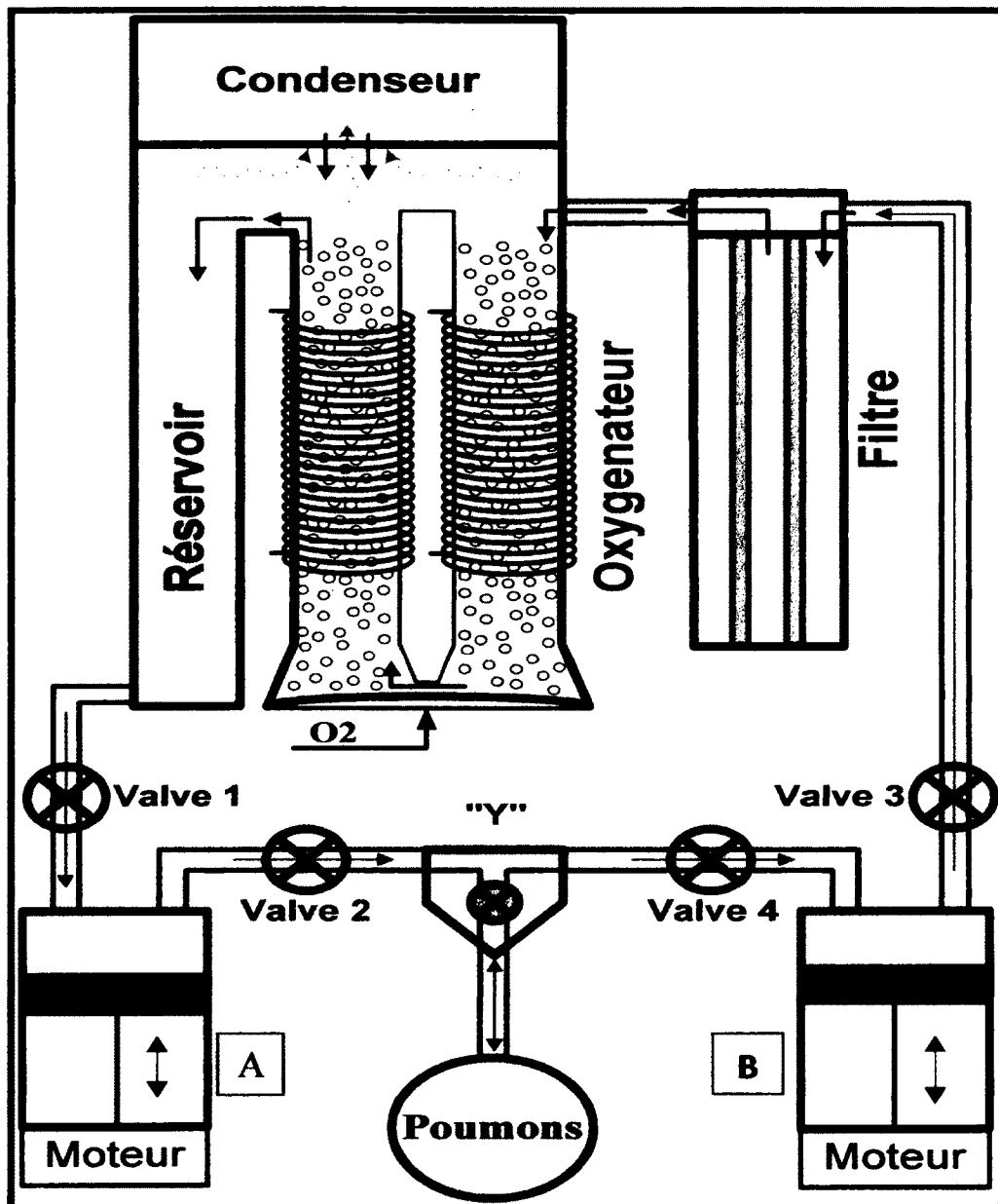


Figure 2 – Schéma du prototype Inolivent-5. Représentation du réservoir tampon (réservoir) et des pompes inspiratoire (A) et expiratoire (B). Le connecteur en « Y » est placé à l'entrée du tube endotrachéal introduit dans l'animal.

## **1.6 Paramètres ventilatoires**

### **1.6.1 Volumes et capacités respiratoires**

Il est important de rappeler qu'en fonction respiratoire on parle de volumes et de capacités. Lors d'un cycle respiratoire au repos, le  $V_t$  est la quantité d'air inhalé et expiré. La CRF est la quantité d'air qui reste dans les poumons à la fin d'une expiration normale, soit la somme du volume résiduel (VR) et du volume de réserve expiratoire (VRE). Le VRE est le volume maximal d'air qui peut être expiré à la fin d'une expiration de repos. La CRF est très importante, car elle constitue une réserve d'oxygène, qui n'est renouvelée que d'environ 1/3 à chaque respiration. De cette façon, le volume de ce « réservoir » est directement proportionnel à l'oxygénation sanguine. Si la CRF diminue, la réserve d'oxygène dans les poumons pourrait ne plus être suffisante pour assurer une oxygénation adéquate. Le terme précis correspondant à la CRF, en VMC, est le volume de fin d'expiration (de l'anglais EELV – end-expiratory lung volume) (Ritz et al., 2002).

### **1.6.2 Élasticité et résistance du système respiratoire**

Chez les patients ventilés sous sédation et curarisation, le système mécanique respiratoire est composé fondamentalement par 3 structures passives (poumon, paroi thoraco-abdominale et arbre aérien). Ces structures possèdent des propriétés mécaniques d'élasticité et de résistance. La résistance correspond à une relation entre une pression motrice et un débit gazeux ( $\dot{V}$ ) et se quantifie selon l'équation  $R = \Delta P / \Delta \dot{V}$ . L'inflation du système respiratoire nécessite de s'opposer à des forces résistives, des forces d'inertie et des forces élastiques qui s'exercent sur la paroi thoracique et les poumons. Ces forces peuvent être produites par le respirateur lors de la ventilation mécanique (Lu & Rouby, 2000). En VLT, en raison de la grande viscosité des PFCs, et pour maintenir une faible résistance du liquide dans les voies aériennes, la vitesse du liquide doit être maintenue basse, en utilisant une durée d'inspiration et d'expiration prolongée et donc une fréquence respiratoire basse. Cette approche tend à réduire l'efficacité des échanges gazeux. Cependant, le faible coefficient de diffusion des gaz et la grande capacité de

dissolution des gaz respiratoires dans le PFC rendent cette stratégie ventilatoire possible et efficace (Koen et al., 1988).

L'élasticité du système respiratoire correspond à une relation entre une pression motrice et un changement de volume ( $\Delta V$ ). Elle est quantifiée par la compliance (C) ou par son inverse, l'élastance (E). L'élastance est le rapport entre un changement de pression transmurale statique ( $\Delta P$ ) appliqué à l'appareil respiratoire et le changement de volume du système respiratoire ( $\Delta V$ ), qui en résulte à l'équilibre. La compliance est l'inverse de l'élastance.

$$C = \frac{\Delta V}{\Delta P}$$

$$E = \frac{\Delta P}{\Delta V}$$

En ventilation mécanique, l'élasticité est généralement évaluée par la mesure de la compliance, qui correspond à la distensibilité du système respiratoire, c'est-à-dire la facilité avec laquelle le système respiratoire est distendu par une pression transmurale donnée (Iotti, 1999).

La compliance du système respiratoire peut être mesurée sur une courbe P-V statique (figure 3), afin d'éliminer la composante résistive du système. Cette courbe nous donne les caractéristiques de la mécanique du système respiratoire statique durant un cycle respiratoire, soit l'inspiration et l'expiration. Elle doit être mesurée dans des conditions idéales d'anesthésie. La relation statique pression-volume du système respiratoire est sigmoïde et la pente de la partie linéaire (située entre les points « a » et « b »), nous donne la valeur de la compliance des poumons. En deçà du point « a », le poumon est collabé, et au delà du point « b », le poumon est surdistendu. Le point d'inflexion inférieur « a » représente le volume de la CRF (volume minimal à maintenir) et la valeur de la pression minimale, soit la PEEP. Le point d'inflexion supérieur « b » nous donne la pression maximale à ne pas dépasser pour éviter d'endommager le poumon, car à partir de ce point le poumon commence à être distendu. Ainsi, on souhaite toujours rester dans la zone de pression et de volume, où la compliance est optimale. La



relation pression-volume permet d'étudier les propriétés mécaniques du système respiratoire à différents niveaux d'inflation pulmonaire (Lu and Rouby, 2000).

Courbe pression-volume du système respiratoire en ventilation mécanique

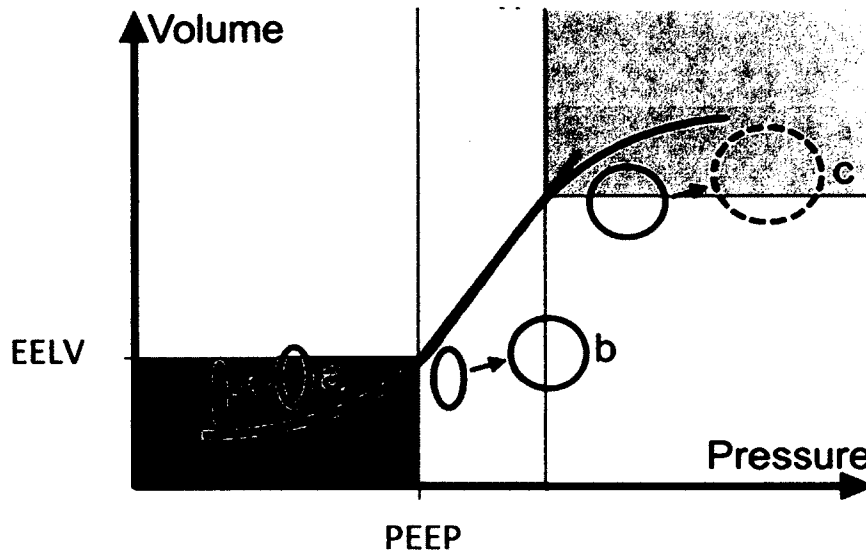


Figure 3 – La relation pression (abscisse) volume (ordonnée) est sigmoïde et sa pente correspond à la compliance. Le point d'inflexion inférieur de la courbe est à l'intersection avec les parties verte et jaune du graphique, où le volume pulmonaire correspond à l'EELV et la pression appliquée au système à la PEEP. La zone en jaune indique la portion optimale de la courbe, où la compliance, représentée par la pente rouge, est maximale. Le point d'inflexion supérieur de la courbe, à l'intersection avec les parties jaune et bleue du graphique, correspond à la pression maximale à ne pas dépasser car à ce point commence la zone de surdistension. Adapté de (Russell R et al., 2012).

### 1.6.3 Contexte de l'étude

En résumé, pour des raisons de sécurité et d'efficacité, il est nécessaire d'éviter les sous et surdistensions dans les poumons lors de la VLT. Selon nous, trois différentes approches sont envisageables pour résoudre ce problème. Ces différentes techniques de mesure doivent être étudiées afin de déterminer laquelle est la plus précise pour, ensuite, l'intégrer au contrôle de notre prototype de ventilateur liquidien.

#### 1.6.4 Objectifs de l'étude

Notre objectif principal est de mesurer le volume de PFC en continu dans les poumons pendant la VLT pour être capable d'éviter et/ou d'identifier une sous ou surdistension pulmonaire afin d'optimiser la fiabilité de la VLT, sur le plan de l'efficacité (échanges gazeux) et de la sécurité (sous/surdistension). Ainsi, les objectifs ont été divisés en objectifs généraux et spécifiques. Les objectifs généraux comprennent : (i) mesurer en continu le volume de PFC présent dans les poumons pendant la VLT; (ii) évaluer si la mesure de la compliance du système respiratoire nous permet d'identifier une surdistension lors de variations de volume pulmonaire imposées. Les objectifs spécifiques sont, premièrement, d'estimer le volume de PFC présent dans les poumons (*in vitro* et *in vivo*) à l'aide de : (a) la balance de précision; (b) la mesure du volume de PFC du réservoir tampon du prototype (variation du niveau du liquide) et; (c) la mesure au niveau de la pièce en Y des volumes courants inspirés et expirés de PFC par un débitmètre qui, en mesurant les débits inspiratoires et expiratoires de PFC et en les intégrant en volume, devrait permettre un bilan des volumes plus proche de la réalité que la mesure actuelle faite au niveau des pompes inspiratoire et expiratoire du prototype.

Deuxièmement, nous testerons l'hypothèse que la mesure de la compliance statique du système respiratoire sur la courbe p-v permet d'identifier une augmentation de volume pulmonaire imposée et de suggérer la présence d'une surdistension.

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1 *In vitro*

#### 2.1.1 Validation de la balance de précision

Une balance de précision commerciale (balance de laboratoire *Defender*, modèle D15HR) a été utilisée pour les expérimentations. Le fabricant garantit la capacité versus la lisibilité de 15Kg pour 2g et la capacité versus la lisibilité approuvé/certifié, de 15kg pour 0.005kg. La résolution certifiée maximal est de 1 : 3000. Dans un premier temps, la validation de la balance *in vitro* nous a permis d'assurer son intégration au système du prototype Inolivent-5. Les capteurs ont tout d'abord été calibrés avec des poids connus : la charge déposée sur la balance générant une variation mesurée par les capteurs qui était traduite en force électromotrice (tension en Volts). Par la suite, la sensibilité des capteurs a été ajustée (figure 10).

#### 2.1.2 Réservoir tampon

La validation de la fiabilité de la mesure réalisée au niveau du réservoir tampon a tout d'abord été étudiée *in vitro* en prenant la balance comme référence. Le prototype Inolivent-5 a été utilisé pour ventiler un ballon et mesurer les variations de poids enregistrées en continu pendant 3 heures. La PEEP était constante tout au long de l'expérimentation. Les pertes de PFOB par évaporation ont été considérées (voir point 2.2.4.1 B). Les calculs du volume du ballon ont été effectués à partir de la variation du niveau du réservoir tampon (calcul similaire à celui du  $V_{pulmonaire}$ )

#### 2.1.3 Débitmètre

Le débitmètre a été développé par l'équipe des ingénieurs pendant l'étude du prototype Inolivent-4 (copyright). Beaulieu et al., (2011), ont proposé un design constitué

d'un tube de venturi symétrique avec trois capteurs de pression situés à l'intérieur (figure 4).

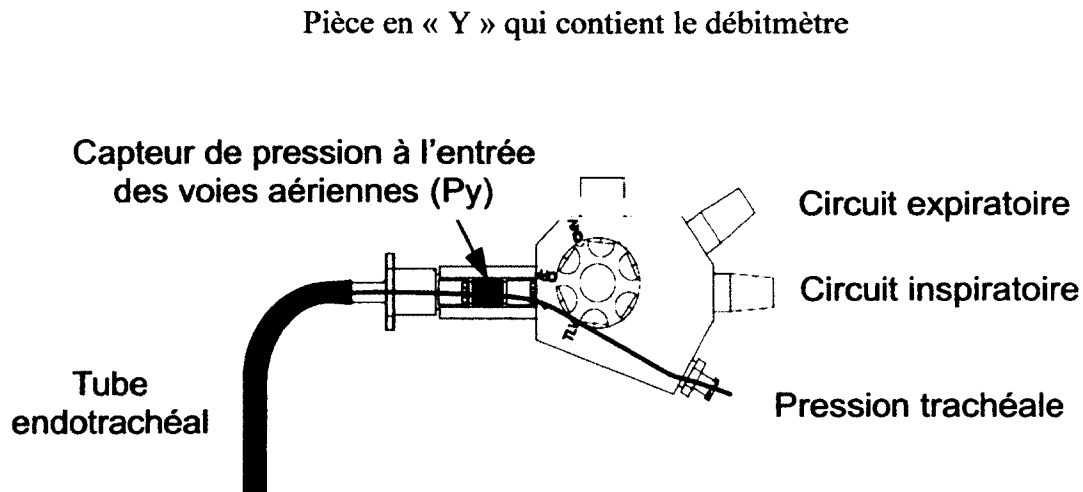


Figure 4 – Pièce en Y contenant le débitmètre : tube de venturi symétrique avec trois capteurs de pression situés à l'intérieur (indiqué par la flèche) (Micheau et al. – InTech – 2011).

Le débitmètre est intégré au connecteur en Y du prototype. Pour mesurer le débit, les calculs ont été effectués en utilisant une version modifiée de l'équation de Bernoulli pour un écoulement instationnaire. Ainsi, un prototype a été validé expérimentalement.

La caractérisation a été faite à basse et à haute fréquence ( $\leq 4$  Hz). Les profils de vitesse ont été mesurés dans le venturi par vélocimétrie par images de particules (VIP). Le dispositif a été calibré expérimentalement par comparaison avec un débitmètre à ultrasons et des mesures à partir d'une pompe à piston. La validation de la fiabilité de la mesure du débitmètre *versus* la balance a été étudiée dans un premier temps *in vitro* au cours d'une ventilation du ballon (voir 2.1.2).

## 2.2 *In vivo*

### 2.2.1 Population à l'étude

Pour cette étude, six agneaux sains (4 mâles et 2 femelles) de moins de 4 jours de vie et pesant entre 2 et 4 kg ont été utilisés (tableau 2). Les six agneaux ont été utilisés pour la mesure des variations du volume pulmonaire et des paramètres de la mécanique du système respiratoire en VLT. Trois de ces animaux ont aussi servi à quantifier précisément l'importance des pertes insensibles, c'est-à-dire les pertes d'eau par évaporation en VLT.

### 2.2.2 Conception de l'étude

Cette étude, de type expérimental, a été menée à l'animalerie centrale de la faculté de médecine et des sciences de la santé de l'Université de Sherbrooke. L'étude a été approuvée par le comité d'éthique de l'Université de Sherbrooke, en accord avec les règlements du « Conseil canadien de protection des animaux ».

Les agneaux ont d'abord été anesthésiés et branchés en VMC afin de permettre l'installation du cathéter fémoral. Puis, après 30 minutes de repos pour permettre la stabilisation de l'animal, les mesures des pertes insensibles ont été réalisées pendant 3 heures. Puis, après le changement de mode ventilatoire pour la VLT, une heure de repos a été respectée pour permettre la stabilisation de l'animal. Finalement, une dernière phase test comprenait 2 séries de variation de la PEEP (1, 5 et 10 cmH<sub>2</sub>O) et une phase de 30 minutes de repos, précédant la réalisation de la courbe P-V.

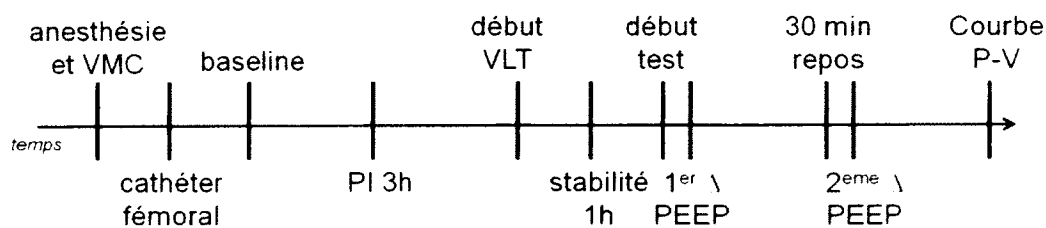


Figure 5 – Ligne du temps d'une journée d'expérimentation.

### Préparation des agneaux et induction de l'anesthésie

Les agneaux sont arrivés de la bergerie Vert-laine, située à Stoke (QC), soit les mardis, mercredis ou jeudis, selon la date de l'expérimentation. À l'arrivée, la taille (du museau jusqu'à la queue), le poids et la température de l'agneau ont été mesurés. Des antibiotiques (duplocilline, 0,05 mL/kg et gentamicine, 5 mg/kg) ont été injectés par voie intramusculaire pour assurer une bonne couverture antibactérienne tout au long de l'expérimentation. Juste avant l'induction de l'anesthésie, les agneaux ont reçu une prémédication par atropine (0,1 mg/kg en injection sous-cutanée) et kétamine (10 mg/kg IM). Une anesthésie locale avec de la lidocaïne endotrachéale (Lidodan 12 mg) a précédé l'intubation oro-trachéale (sonde endotrachéale de diamètre 4,5 mm avec ballonnet). Un cathéter intraveineux (diamètre 4 French) a ensuite été inséré dans la veine jugulaire gauche pour permettre une perfusion lente de solution Ringer lactate (8 mL/kg/h) et dextrose à 10% (4 mL/kg/h). L'anesthésie a alors été induite par une dose initiale de propofol (3,5 mg/kg IV) et maintenue par une perfusion intraveineuse de propofol (3 mg/kg) et de kétamine (10 mg/kg). Dès l'induction de l'anesthésie, la VMC était en mode ventilation contrôlée à régulation de pression (VCRP). Les réglages initiaux étaient les suivants :  $V_t$  de 10 à 11 mL/kg, fréquence respiratoire (FR)  $\leq 55$  respirations/min, PEEP de 4 cmH<sub>2</sub>O, pression inspiratoire maximale de 30 cmH<sub>2</sub>O et fraction inspirée d'oxygène (FiO<sub>2</sub>) réglée pour obtenir une saturation de l'oxygène (SaO<sub>2</sub>)  $> 95\%$ .

Après induction de l'anesthésie, les agneaux ont été installés en décubitus dorsal sur un tapis chauffant posé sur une table chirurgicale radiante, de façon à maintenir la température corporelle à  $39^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$ . La table était posée sur une balance de précision fabriquée dans notre laboratoire. La fréquence cardiaque et la SaO<sub>2</sub> ont été mesurées par un capteur d'oxymétrie de pouls (Radical, Maximo, Irvine, CA) installé à la base de la queue. Un cathéter artériel fémoral droit 4 Fr/8 cm inséré par voie transcutanée a permis de mesurer les gaz du sang et assurer une surveillance hémodynamique continue par le système VoLEF (Pulsion Medical Systems, Germany) (Bossé et al., 2010<sup>b</sup>). Pour les résultats hémodynamiques, comme l'index cardiaque, la surface corporelle (Sc) a été calculée à partir du poids selon Mitchell (1928) :  $Sc = 0,085 \times \text{poids}^{0,67}$ .

L'anesthésie a été maintenue avec une perfusion continue de propofol et de kétamine, comme cité auparavant, et la curarisation avec des bolus de vecuronium (0,1 mg/kg IV) répétés au besoin. Les besoins d'entretien ont été assurés par une perfusion continue de dextrose à 10 % et de Ringer lactate avec du potassium (20 mEq/L). De plus, de la trométhamine (THAM) et du bicarbonate de sodium ont été utilisés au besoin pour corriger une acidose métabolique ( $\text{pH} < 7,25$ ). Le maintien de la pression artérielle moyenne (APm  $\geq 50$  mmHg) a été assuré par des bolus IV de Ringer lactate (10 mL/kg IV) au besoin.

La surveillance des échanges gazeux et des paramètres hémodynamiques a été faite sur une base horaire. Dans un premier moment, une analyse en VMC a assuré un niveau de base normal, selon les données dans la littérature et des études précédentes dans notre laboratoire : pH de 7,35 à 7,45, PaO<sub>2</sub> de 80 à 100 mmHg, PaCO<sub>2</sub> de 35 à 45 mmHg et PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> de 380 (80/0,21) à 475 (100/0,21) (Avoine, 2011). Le ratio PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> représente la mesure de référence absolue du degré d'oxygénation de patients sous ventilation artificielle (Villar et al., 2013). L'APm a été maintenue entre 40 et 70 mmHg et la fréquence cardiaque (FC), entre 180 et 220 bpm (Avoine et al., 2011).

#### Mesure de la mécanique respiratoire en ventilation gazeuse conventionnelle

Pendant 30 minutes de repos, la FiO<sub>2</sub> a été maintenue à 1 pour permettre la mesure des indices hémodynamiques de base et de mécanique respiratoire en VG. L'évaluation de la mécanique respiratoire avait comme objectif principal d'optimiser la ventilation en maintenant les pressions inspiratoires  $\leq 35$  cmH<sub>2</sub>O, une FR  $\leq 55$  respirations / min et la PEEP entre 3 et 5 cmH<sub>2</sub>O. Ceci a été réalisé en suivant en continu les courbes p-v du système respiratoire et les données de mécanique respiratoire données par le Servo 300, pour atteindre la compliance la plus élevée avec une résistance basse. Cette approche a permis d'éviter une surdistension telle qu'évaluée par l'aplatissement de la courbe p-v, de façon à minimiser le risque de lésions pulmonaires par volotraumatisme. Le Vt attendu était de l'ordre de 10-11 mL/kg. Le temps inspiratoire (Ti) était de 0,3 sec et le temps expiratoire (Te) de 0,6 sec, avec un rapport I/E = 1/2.

### Mesure des pertes insensibles

Une estimation des pertes insensibles était nécessaire pour ne pas biaiser les résultats obtenus à l'aide de la balance de précision. Pour ce faire, une couverture de plastique étanche a été placée sur l'agneau, afin de recouvrir toute la surface cutanée et minimiser les pertes insensibles. Le poids corporel a alors été suivi en continu à l'aide d'une balance de grande précision (fabrication Raymond Robert, Département de génie mécanique, UdeS). Des calculs ont été effectués chaque heure pour comparer les variations de poids. Ainsi, les valeurs ont été obtenues par la différence entre les moyennes de variation de poids (en g/kg/h) de 60 cycles respiratoires à la fin et au début de chaque heure analysée, soit la 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> heure de VMC, suivant la chirurgie d'insertion des cathéters. Un humidificateur (Fisher and Paykel Healthcare Limited, Laval, QC) branché sur la tubulure inspiratoire a été utilisé tout au long des expérimentations. La normalisation du poids a été obtenue en rapportant les variations du poids au poids corporel total de chaque agneau.

Pendant les 3h d'expérimentation les interventions des expérimentateurs sur l'agneau ont été minimales, pour ne pas perturber la surveillance du poids. Seuls des prélèvements sanguins artériels ont été faits une fois par heure pour maintenir les gaz du sang normaux ( $PaO_2$  entre 80 et 100 mmHg,  $PaCO_2$  entre 45 et 55 mmHg et  $SaO_2 > 95\%$ ). Cependant, lorsqu'une intervention a été nécessaire, comme par exemple l'injection d'un médicament ou le changement de position de l'animal, les mesures ont été enregistrées dans le prototype Inolivent-5. Ainsi, un bilan détaillé des ingesta et excréta a pu être fait tout au long de l'expérimentation, ce qui nous a permis de nous assurer que les variations de poids enregistrées par la balance à cette phase expérimentale étaient donc uniquement les pertes insensibles.

#### **2.2.3 Ventilation liquidienne totale**

Après avoir mesuré les pertes insensibles (3 agneaux), ou directement après la phase de stabilisation, les poumons ont été remplis avec une dose initiale de 25 mL/kg de



Perflubron ou Perfluo-octyl bromide (PFOB – Exflur, ÉU) pré-oxygéné et réchauffé à 39° C, via la sonde endotrachéale. Le remplissage des poumons a été fait en une seule aliquote de PFC et suivi immédiatement par l'initiation de la VLT, selon la procédure décrite antérieurement (Avoine et al., 2011). Un bilan précis des variations du volume de PFC, des volumes de liquides injectés et retirés (prélèvements sanguins, perfusions et bolus de médicaments) et des excréta (urines et selles) a été réalisé tout au long de l'expérimentation.

Les réglages des constantes de ventilation ont permis le maintien d'une ventilation-minute constante de 160 mL/kg/min pendant la VLT ( $V_t$  de 25 ml/kg et fréquence du respirateur à 6,4/min). L'inspiration a été contrôlée en volume, en utilisant un profil de débit inspiratoire de type rampe d'accélération (5%) puis ralentissement (10%). L'expiration a été contrôlée en pression, la pression trachéale moyenne étant d'environ - 20 cm H<sub>2</sub>O. Une rampe d'accélération (5%) a été utilisée pour se rendre à cette pression expiratoire. Le temps inspiratoire a été réglé à 2,5 secondes (temps d'inspiration + temps de pause inspiratoire de 0,5 s). La PEEP a été maintenue entre 1 et 2 cmH<sub>2</sub>O (avec un temps de pause expiratoire de 0,6 s) et la PEIP limitée à 30 cmH<sub>2</sub>O (figure 6). Une phase de stabilisation de 30 minutes a permis l'ajustement des constantes de ventilation et de la FiO<sub>2</sub> pour obtenir des gaz du sang normaux.

Ce schéma de ventilation a été basé sur des études précédentes (Wolfson et al., 1992), qui ont démontré que la ventilation et l'oxygénation optimales dépendent d'une ventilation-minute adéquate, ainsi que d'un temps expiratoire suffisant pour assurer le drainage des poumons et pour la diffusion des gaz respiratoires vers et à partir du liquide (Micheau et al., 2011). Après le branchement en VLT, les animaux ont été ventilés pendant une heure sans aucune intervention ou modification des réglages du ventilateur. Cette approche nous a permis de mesurer les variations de poids (en grammes) en continu de chaque animal avec la balance de précision. Les données ont été enregistrées dans le prototype Inolivent-5 toutes les 0,2 secondes. Cette variation de poids a donc constitué la référence à laquelle ont été comparées les deux autres techniques utilisées, soit le réservoir tampon et le débitmètre.

## Schéma du contrôle respiratoire par le prototype Inolivent-5

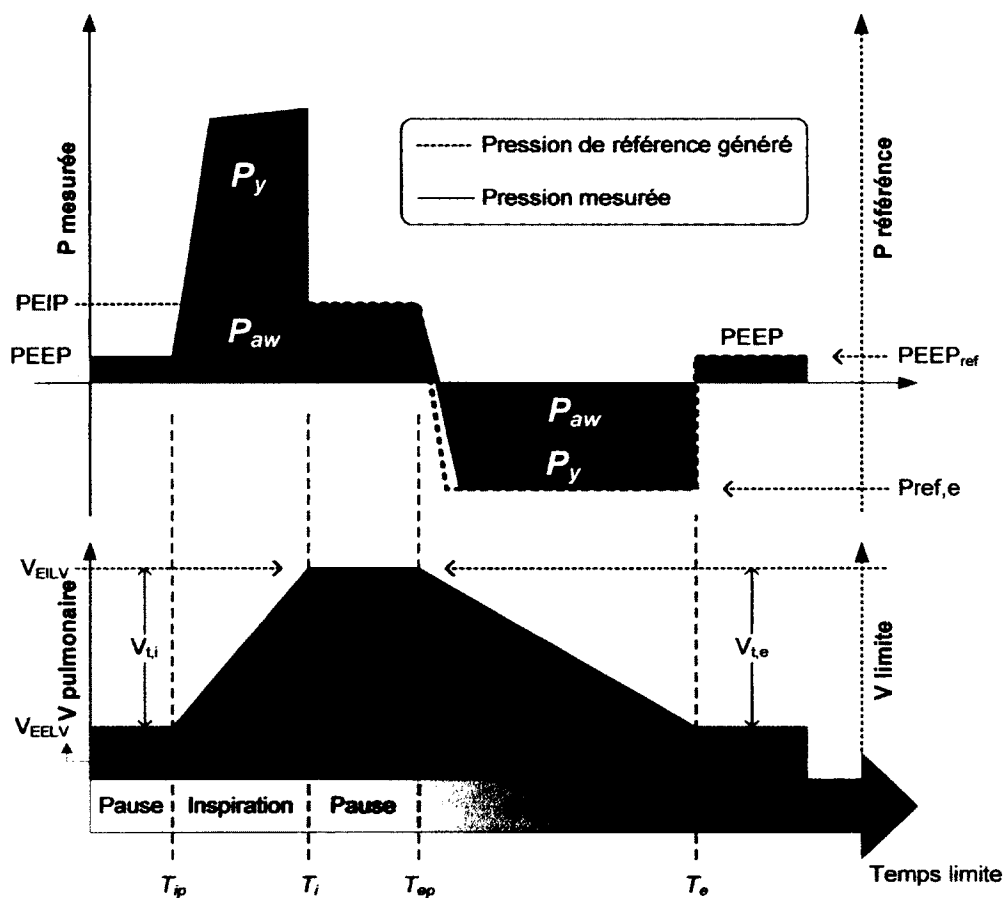


Figure 6 – Représentation du contrôle de la pression inspiratoire, expiratoire et des pauses à la fin de l'inspiration et de l'expiration. Les limites de pression ( $PEIP$  et  $PEEP$ ) et volume ( $V_{EILV}$  et  $V_{EELV}$ ) à la fin de l'inspiration et de l'expiration, respectivement, sont indiquées (adapté de Micheau et al., 2011).

## 2.2.4 Méthodes d'estimation du volume pulmonaire

### 2.2.4.1 Variation du poids de l'agneau

La capacité maximale de charge de la balance de précision est de 15 kg, y compris le poids de l'agneau et l'équipement nécessaire pour la perfusion et les mesures hémodynamiques. Il s'agit d'une petite plate-forme de pesage montée sur trois unités de détection à commande hydraulique (figure 7). Les changements de poids appliqués à n'importe laquelle de ces unités sont transmis par des lignes hydrauliques et les valeurs sont enregistrées par le prototype Inolivent-5. Le tarage de la balance a été fait après la préparation chirurgicale de l'animal au début des mesures de pertes insensibles, puis encore une fois au début de la VLT. Il a donc été possible de mesurer le poids absolu de l'agneau en recalibrant la balance.

Balance de précision utilisée dans les expérimentations



Figure 7 – Balance de précision commerciale. Plate-forme de pesage montée sur trois unités de détection à commande hydraulique.

Les enregistrements des mesures obtenues par la balance ont été faits dans le prototype Inolivent-5 grâce à un logiciel développé par l'équipe d'ingénieurs du département de génie mécanique de la faculté de génie de l'UdeS. Ce logiciel donne les variations exactes du poids à un moment précis. Pour enregistrer la variation du poids en continu, un programme dans le logiciel MATLAB (MathWorks Inc, Natick, Massachusetts) du prototype a été développé (figure 8). Trois touches différentes font la

distinction entre chaque type d'intervention : la première touche identifie un prélèvement de sang; la deuxième, l'injection de médicaments; et la troisième, les autres interventions, comme par exemple bouger l'animal ou la balance. Ainsi, au début de chaque intervention, l'activation de la touche concernée se traduit par un numéro de séquence propre au grafset (graphe fonctionnel de commande des étapes / transitions) de la balance, qui se poursuit jusqu'à ce que la touche soit désactivée par l'expérimentateur. Au moment d'une prise de sang, par exemple, l'expérimentateur actionne la première touche, exécute la procédure puis la désactive. Cette approche nous permet d'identifier et de supprimer, au moment de l'analyse des données, les variations de poids générées par une source externe. Chaque volume de médicament a été transformé en gramme en fonction de sa densité. De cette façon, la valeur du poids de chaque médicament, qui a été injecté dans l'animal, était connue. Ainsi, un bilan détaillé des ingesta et excréta a pu être fait tout au long de l'expérimentation, ce qui nous a permis de distinguer l'origine de la variation du poids de l'animal à chaque phase expérimentale.

Vue de la fenêtre du logiciel utilisé pour mesurer les variations de poids de l'agneau

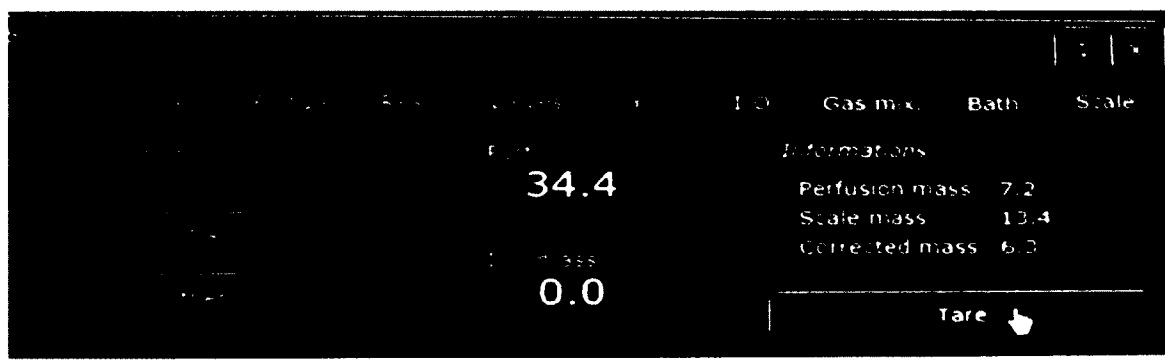


Figure 8 – Vue de la fenêtre du logiciel utilisé pour mesurer les variations de poids de l'agneau. Logiciel développé dans le prototype Inolivent-5 afin d'assurer le contrôle des ingesta et excréta mesurés par la balance de précision lors de la phase expérimentale. À gauche de la figure, les touches Drug, GDS et Other identifient l'injection de médicaments, les prélèvements de sang et d'autres interventions. Les deux fenêtres au centre nous donnent le volume de la perfusion (en g/h) et la masse injectée (en g) lors d'une intervention. À droite, les informations données en

continu sont affichées et la touche tare nous permet de faire le zéro de la balance au besoin. Le logiciel permet le suivi des variations exactes du poids durant un intervalle de temps précis.

#### 2.2.4.2 Niveau du réservoir tampon

La mesure de la variation du niveau du réservoir tampon a été faite à l'aide d'un capteur de niveau (flotteur) commercial (WIKA type FFG). Les calculs du volume pulmonaire ont été effectués à partir de la variation du volume du réservoir. Le capteur comprend un fil en matériau magnétostrictif vers lequel les impulsions de courant, imposées par un microcontrôleur, se propagent et génèrent un champ magnétique circulaire. Un aimant localisé à l'intérieur du flotteur sert d'indicateur de niveau. Son champ magnétique provoque une magnétisation du fil, qui génère une impulsion de torsion à l'endroit où se trouve l'aimant du flotteur. Cette impulsion se propage le long du fil jusqu'à la tête du capteur où elle est transformée en un signal électrique. L'intervalle de temps entre l'émission de l'impulsion et le retour dans la tête du capteur est alors mesuré et permet de déterminer la position du flotteur (figure 9).

Toutes les mesures prises sur le respirateur en lien avec les variations du volume pulmonaire ont été rapportées à la balance. La comparaison de ces deux données a toujours été faite à la fin de l'expiration. À cet instant, les pompes inspiratoire et expiratoire sont remplies et le niveau du réservoir, stable. Pour cette comparaison, des calculs ont été effectués afin de trouver le volume pulmonaire équivalent à la valeur mesurée au niveau du réservoir. Le volume de remplissage ( $V_{\text{remplissage}}$ ) des poumons, calculé à partir de la variation du volume dans la pompe inspiratoire, a été mis en mémoire. La fin de l'expiration a été identifiée par un numéro de séquence propre au grafcet de remplissage. Une fois le remplissage terminé, le volume de PFC dans la machine ( $V_{\text{machine}}$ ) a été calculé en ajoutant au volume de PFC mesuré dans le réservoir ( $V_{\text{réservoir}}$ ), le volume de PFC dans les pompes inspiratoire ( $V_i$ ) et expiratoire ( $V_e$ ).

$$V_{\text{machine}} = V_{\text{réservoir}} + V_i + V_e$$

Pour l'exécution des calculs, le volume de PFC présent dans les tubulures, l'oxygénateur et dans le filtre a été considéré fixe à la fin du remplissage et, par

conséquent, à négliger pour les calculs. Par la suite, au premier cycle de VLT, le niveau du réservoir tampon a été mis en mémoire ( $V_{résDébut}$ ). Ce niveau marque le point de référence pour le calcul du volume pulmonaire ( $V_{pulCal}$ ). Ainsi, à chaque pause de fin d'expiration, le calcul du volume pulmonaire était le suivant :

$$V_{pulCal} = (V_{résDébut} - V_{réservoir}) + V_{remplissage}$$

Les pertes de PFOB par évaporation ont été calculées par la différence entre le poids total mesuré par la balance et par le poids associé au volume pulmonaire calculé. Ensuite, pour obtenir la masse équivalente en grammes, ce résultat a été multiplié par la densité du PFOB (1,96 g/mL à 25° C et 1ATM) calculé à la température mesurée à l'intérieur du réservoir tampon. Les résultats ont été obtenus à l'aide du logiciel MATLAB, en utilisant la fonction polyfit. Cette fonction utilise les moindres carrés pour trouver la droite qui minimise l'erreur entre la fonction (droite) et les points expérimentaux. Les premières 15 à 20 minutes ont été enlevées du calcul, car la tendance n'était pas proportionnelle durant cette période.

Après la détermination des pertes par évaporation, ces valeurs ont été intégrées et ajoutées à la valeur mesurée au niveau du réservoir tampon. La correction du niveau mesuré du réservoir, prenant en compte les pertes par évaporation, a été faite tout au long de la VLT et a été utilisée pour le calcul du volume pulmonaire. Une fois les pertes par évaporation identifiées et le volume pulmonaire corrigé, la corrélation entre la mesure de la balance et la masse du volume pulmonaire (décrite auparavant) fût possible. Il est important de savoir que le remplissage du réservoir tampon ajoute des biais sur le calcul du volume pulmonaire. Dans les expérimentations *in vivo*, il est impossible de mesurer, en continu, le volume ajouté au réservoir par la pompe de remplissage, soit une pompe péristaltique qui pompe du liquide PFC à l'intérieur du prototype Inolivent-5, vers la première colonne de l'oxygénateur. Le liquide fraîchement pompé est donc réchauffé et oxygéné avant d'être inséré dans les poumons du patient. Pour résoudre le problème de la variation de volume généré par la pompe de remplissage, la variation du volume

pulmonaire est corrigée par les variations de volume au niveau des pompes pendant ce court intervalle de temps.

Schéma du capteur de niveau installé à l'intérieur du réservoir tampon

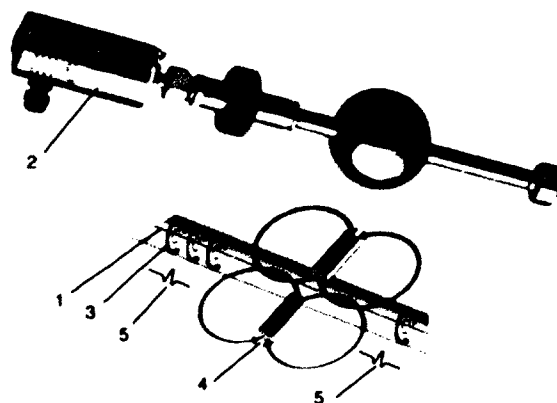


Figure 9 - Schéma du capteur de niveau magnétostrictif installé à l'intérieur du réservoir tampon. 1) fil magnétostrictif; 2) boîtier du capteur; 3) champ magnétique; 4) aimant permanent du flotteur; 5) impulsion de torsion (WIKA fiche technique LM 20.01 03/2010).

#### 2.2.4.3 Débitmètre

La validation de la fiabilité de la mesure du débitmètre *versus* la balance a été étudiée dans un premier temps *in vitro*, puis *in vivo* (Voir 2.1.3).

#### 2.2.4.4 Mesure des variations de la compliance du système respiratoire

La mesure de la compliance est un index important dans l'évaluation de la surdistension pulmonaire, et elle est donnée par la variation de volume en fonction de la variation de la pression. La compliance statique du système respiratoire a été obtenue au cours de la VLT, pendant la « phase test » (figure 10). Une pause de 3 secondes était faite lors des mesures de compliance, contrôlée par l'expérimentateur. Deux mesures ont été faites à chaque variation de PEEP, soit 1, 5 et 10 cmH<sub>2</sub>O et une moyenne de ces valeurs a été calculée.

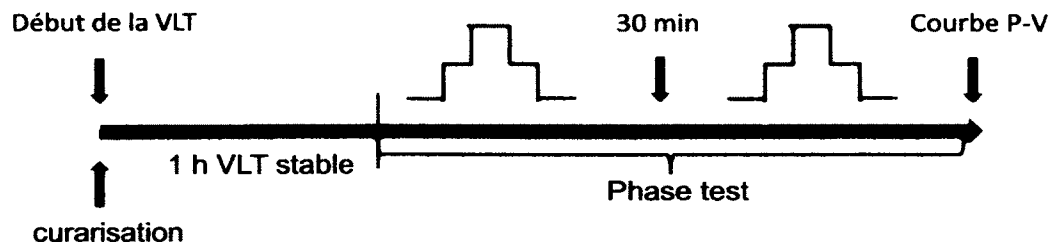


Figure 10 – Identification de la phase test avec la variation de la PEEP (étages de 1, 5 et 10  $\text{cmH}_2\text{O}$ ) au long de l'expérimentation.

#### 2.2.4.5 Analyse des courbes pression-volume

La compliance du système respiratoire peut être obtenue à partir de la courbe P-V tracée à la fin de chaque expérimentation selon les étapes suivantes : un volume de remplissage maximal de 80 mL/kg a été fixé, ainsi qu'une pression alvéolaire maximale de 30  $\text{cmH}_2\text{O}$  à ne pas dépasser. Le volume de 80 mL/kg a été inséré dans les poumons par des increments de 20 mL. Après chaque incrément, une pause de 2 secondes a été effectuée afin de mesurer adéquatement la pression alvéolaire. Le remplissage pulmonaire (partie inspiratoire de la courbe P-V) était cessé dès que le volume de 80 mL/kg ou la pression alvéolaire de 30  $\text{cmH}_2\text{O}$  était atteint. Ensuite, le PFC injecté était retiré (partie expiratoire de la courbe P-V) en retranchant des volumes de 20 mL suivis de pauses de 2 secondes, de façon similaire au remplissage. La manœuvre était arrêtée quand tout le volume inséré était retiré ou si la pression alvéolaire mesurée était inférieure ou égale à la PEEP demandée. Dans le domaine de la VG, la valeur de compliance typique pour des poumons sains chez le nouveau-né est autour de 15 mL/ $\text{cmH}_2\text{O}$ . Dans le cas d'une VL, cette valeur de compliance serait proche de 5 mL/ $\text{cmH}_2\text{O}$  (Hirschl et al., 1996).



### 2.3 *Analyses statistiques*

Les paramètres ventilatoires (FR, FiO<sub>2</sub>, PEEP, PEIP, Vt et V/min), cliniques (température, FC, APm) et gazométriques (pH, PaCO<sub>2</sub>, PaO<sub>2</sub>, HCO<sub>3-</sub>, SaO<sub>2</sub>, PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>) ont été analysés en utilisant un test ANOVA à mesures répétées avec les temps traités (t0, t1, t2, t3) comme facteur intra-sujet, et les agneaux, comme facteur inter-sujets. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne et écart-type (ET). Un contraste avec un test t a été utilisé pour comparer les paramètres sélectionnés (StatView SE Graphics, Abacus Concepts Co., Orlando, FL). Une valeur  $p < 0,05$  a été considérée comme indiquant une différence statistiquement significative. Le test non paramétrique de Wilcoxon a été utilisé pour évaluer les paramètres de la pièce, soit la température et l'humidité. Le coefficient de corrélation de Pearson a été établi entre les méthodes de mesure de poids, c'est-à-dire le volume pulmonaire et la balance de précision. Cependant, l'application exclusive de la corrélation est inappropriée pour l'interprétation des données ((Bland & Altman, 1986). Une autre approche, basée sur des techniques graphiques et des calculs simples, est décrite, ainsi que la relation entre cette analyse et l'évaluation de la répétabilité (Bland and Altman, 1986), soit le test de Bland-Altman (Bland and Altman, 1999; Bland and Altman, 2012). Comme la différence de la mesure absolue moyenne diminue au cours du temps, la concordance relative ( $[V_{\text{pulmonaire}} - \text{poids de l'animal}] / \text{poids de l'animal}$ ) a été calculée par le test de Bland-Altman. La différence entre les mesures des deux méthodes a été tout d'abord établie, puis la moyenne et les ETs. L'intervalle de confiance considéré ( $\pm 1,96 + ET$ ) a été utilisé pour évaluer la concordance entre les techniques (Bland and Altman, 1999). L'ET nous permet également d'évaluer la variabilité du biais entre les méthodes, alors que les points de la droite des graphes de Bland-Altman nous permettent de voir les variations dans la concordance de la méthode selon la mesure du poids moyen (Bossé et al., 2010<sup>b</sup>). Une transformation logarithmique a été appliquée dans les résultats pour étudier la concordance entre le réservoir tampon et la balance. Cette transformation permet de montrer une relation plus claire entre les différences et les moyennes de la mesure du poids obtenue par les deux techniques chez tous les agneaux.

Dans le modèle de régression linéaire, le poids mesuré à partir du réservoir tampon (Vpulmonaire) a été notre variable dépendante et le poids calculé par la balance, la variable indépendante. Le poids mesuré par les deux méthodes est similaire lorsque la pente de la droite est proche de 1,0 et la constante, proche de zéro. Les intervalles de confiance de 95% ont été établis entre la pente et l'ordonnée.

La corrélation entre les variables pression et volume lors de la réalisation de la courbe P-V a été analysée par la corrélation de Spearman ( $\rho$ ) non-paramétrique, puisque la relation entre ces deux variables n'est pas linéaire. Aucun test statistique n'a été appliqué pour évaluer les pertes insensibles étant donné que la taille d'échantillon n'est pas suffisante ( $n = 6$ ). Les graphiques de régression linéaire et de Bland-Altman ont été tracés à l'aide du logiciel Excel pour Macintosh (Bureau 2007, Microsoft, Seattle, WA). Les calculs statistiques ont été faits avec le logiciel SPSS version 18 (SPSS Inc., Chicago, Illinois) avec l'aide de la statisticienne du centre de recherche clinique Étienne-Le Bel du CHUS, Marie-Pierre Garant.

### 3. RESULTATS

#### 3.1 *In vitro*

##### 3.1.1 Validation de la balance de précision

La balance de précision a été validée par l'étude de la corrélation entre le poids mesuré (g) et la tension (volt). La figure 11 illustre la corrélation positive entre les deux variables, en montrant que la tension augmente à mesure que le poids augmente.

Figure représentative de l'ajustement des capteurs de tension de la balance de précision

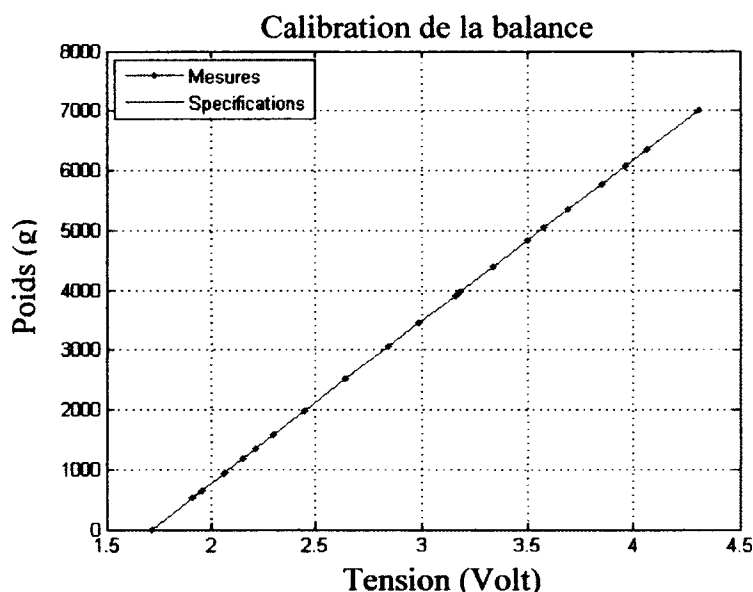


Figure 11 - Corrélation entre la tension mesurée par les capteurs de la balance *versus* le poids mesuré pour la validation de la balance de précision.

##### 3.1.2 Validation du réservoir tampon par VLT sur un ballon

Sauf pour les 30 premières minutes de VLT, la courbe de variation du volume pulmonaire calculé ( $V_{pulCal}$ , voir point 2.2.4.2) est concordante avec la courbe de variation du poids mesuré par la balance de précision tout au long de l'expérimentation (figure 12).

Courbe du volume pulmonaire calculé (VpulCal) et du poids de la balance *in vitro*

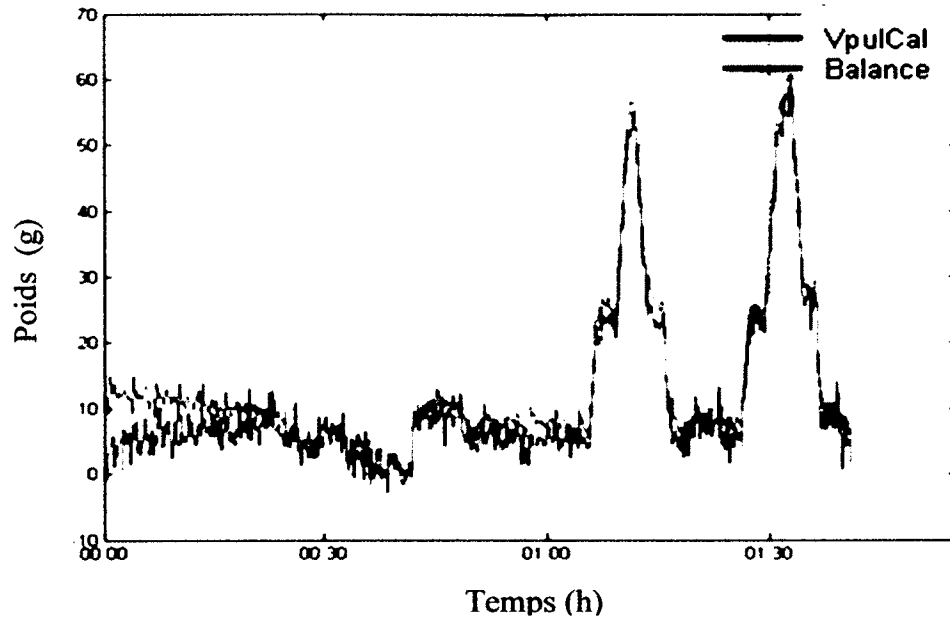


Figure 12 - Comparaison de la variation du volume calculé (Vcalculé) et du poids de l'animal mesuré par la balance

### 3.1.3 Débitmètre

La courbe de variation du volume en fonction du temps calculé à partir de la mesure de débit instantané effectuée par le débitmètre utilisé dans les expérimentations *in vitro* montre une dérive qui devient importante avec le temps (figure 13). Un problème identique a été retrouvé dans les expérimentations *in vivo*. Cette dérive est probablement liée à l'intégration du débit instantané en fonction du temps afin d'obtenir le volume entrant et sortant. Par conséquent, malgré la possibilité d'obtenir la mesure exacte du débit de PFC à un moment précis du cycle respiratoire, les valeurs de volume intégrées en continu ne sont pas fiables dans les expérimentations prolongées. Ainsi, les données obtenues à l'aide du débitmètre ne seront pas décrites dans cette étude.

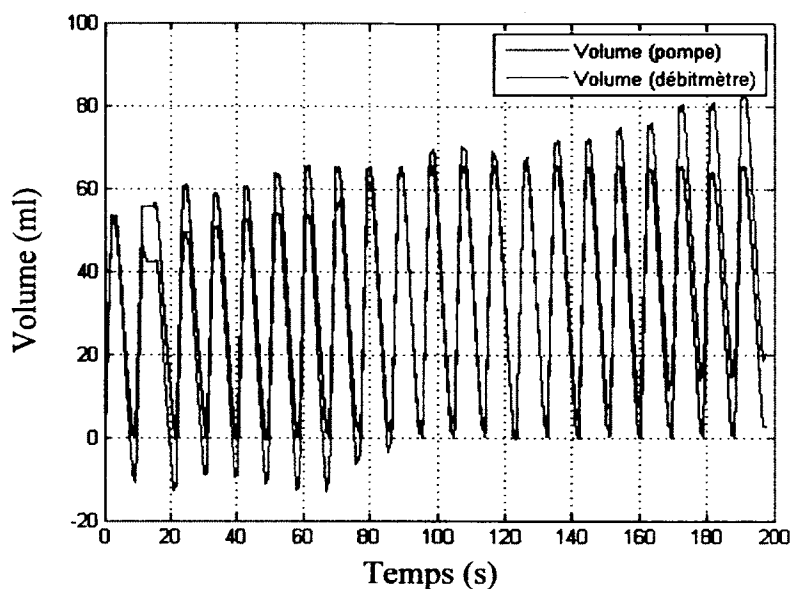


Figure 13 - Comparaison du volume de liquide mesuré au niveau des pompes (inspiratoire et expiratoire) *versus* le volume mesuré par le débitmètre au cours du temps.

### 3.2 Expérimentations *in vivo*

Pour cette étude nous avons utilisé 6 agneaux sains de moins de 5 jours de vie, pesant  $3,68 \pm 0,63$  kg et d'une longueur de  $56,3 \pm 2,6$  cm (tableau 2). Trois agneaux ont été utilisés pour mesurer les pertes insensibles, soit les agneaux 1, 2 et 3. Un réchauffeur-humidificateur était présent dans le circuit inspiratoire en VG tout au long des expérimentations. Pour toutes les autres mesures, les 6 agneaux ont été utilisés.

Tableau 2 – Caractéristiques générales des animaux

# Agneau	Poids (kg)	Âge (jours)	Longueur (cm)	Sexe
1	3,26	3	58	M
2	3,84	5	54	M
3	4,52	4	59	M
4	2,9	3	54	F
5	4,3	4	59	M
6	3,3	3	54	F

#### 3.2.1 Indices hémodynamiques et ventilatoires

Le tableau 3 représente les mesures physiologiques de base des 6 agneaux étudiés pendant la phase de stabilité en VMC; ces résultats sont en accord avec nos résultats

antérieurs obtenus pour des agneaux sains (Avoine et al., 2011). Pendant la VLT, nous avons observé une diminution significative de la température corporelle de  $39,7 \pm 0,6$  à  $38,9 \pm 0,3$ , ainsi qu'une variation significative de la FC de  $220 \pm 38/\text{min}$  à  $195 \pm 39/\text{min}$  (tableau 4). Cependant, ces variations ne nous semblent pas pouvoir influencer de façon significative sur l'état physiologique des animaux.

Tableau 3 - Paramètres physiologiques de base en VMC pour les 6 agneaux

Variable	Paramètre
pH	$7,36 \pm 0,1$
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	$38 \pm 9$
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	$115 \pm 23$
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mEq/L)	$21,5 \pm 3$
SaO <sub>2</sub> (%)	$97 \pm 3$
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	$320 \pm 71$
APa (mmHg)	$74 \pm 8$
T (°C)	$40 \pm 1$
FC (b/min)	$214 \pm 44$

Les données sont exprimées en moyenne et écart-type.

Tableau 4 - Résultats des gaz du sang en VLT dans chaque intervalle de temps pour les 6 agneaux

Variable	t0	t1 (1h)	t2 (2h)	t3 (3h)	Valeur p
pH	$7,29 \pm 0,09$	$7,27 \pm 0,06$	$7,29 \pm 0,06$	$7,28 \pm 0,01$	0,98
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	$43 \pm 8$	$45 \pm 7$	$46 \pm 8$	$48 \pm 8$	0,43
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	$184 \pm 59$	$179 \pm 86$	$129 \pm 30$	$104 \pm 27$	0,02
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mEq/L)	$20 \pm 3$	$19,5 \pm 2$	$20 \pm 1$	$21 \pm 2$	0,55
SaO <sub>2</sub> (%)	$98 \pm 2$	$98 \pm 1$	$97 \pm 2$	$95 \pm 3$	0,79
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	$232 \pm 58$	$213 \pm 113$	$167 \pm 58$	$131 \pm 30$	0,07
APa (mmHg)	$59 \pm 13$	$58 \pm 11$	$57 \pm 11$	$62 \pm 2$	0,07
T (°C)	$39,7 \pm 0,6$	$38,9 \pm 0,3$	$39,1 \pm 0,4$	$39,1 \pm 0,4$	0,03
FC (b/min)	$195 \pm 39$	$201 \pm 38$	$202 \pm 27$	$220 \pm 38$	0,02

Les données sont exprimées en moyenne et écart-type. La valeur p a été calculée par régression linéaire mixte.

Il est important de remarquer la variation des gaz du sang entre la VMC et le début de la VLT, soit le temps zéro (t0) (tableaux 3 et 4). La PaO<sub>2</sub> est passée de  $115 \pm 23$  mmHg en VMC à  $184 \pm 59$  mmHg en VLT. De plus, la PaCO<sub>2</sub> a augmenté de  $38 \pm 9$  mmHg à  $43 \pm 8$  mmHg.

Par la suite, la différence significative de la PaO<sub>2</sub> observée au cours du temps peut être expliquée par la diminution graduelle de la FiO<sub>2</sub> (tableau 5), contrôlée par le clinicien pour obtenir une PaO<sub>2</sub> normale. Cela explique la baisse de la SaO<sub>2</sub> et du rapport PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> durant l'expérimentation.

Tableau 5 - Paramètres ventilatoires de base en VMC pour les 6 agneaux

Variable mesurée	
<b>Fr (resp/min)</b>	<b>58 ± 5</b>
FiO <sub>2</sub>	36 ± 2,5
<b>PEEP (cmH<sub>2</sub>O)</b>	<b>4 ± 0</b>
PEIP (cmH <sub>2</sub> O)	22 ± 4
<b>Vt (mL)</b>	<b>43,7 ± 8,4</b>
<b>V/min (mL/kg/min)</b>	<b>685 ± 35</b>

Les données sont exprimées en moyenne et écart-type.

Les paramètres ventilatoires sont présentés dans les tableaux 5 et 6. Les variations existantes entre la VMC et la VLT sont expliquées par le changement de mode ventilatoire. Puisque la modification des paramètres était contrôlée par le clinicien au besoin, aucune analyse statistique n'a été réalisée.

Tableau 6 - Paramètres ventilatoires en VLT dans chaque intervalle de temps

Variable	t0 (0h)	t1 (1h)	t2 (2h)	t3 (3h)
<b>Fr (resp/min)</b>	<b>6 ± 0</b>	<b>6 ± 0</b>	<b>6 ± 0</b>	<b>6 ± 0</b>
FiO <sub>2</sub>	81 ± 20	86 ± 8	81 ± 10	80 ± 15
<b>PEEP (cmH<sub>2</sub>O)</b>	<b>4 ± 2</b>	<b>6 ± 2</b>	<b>7 ± 2</b>	<b>6 ± 1</b>
PEIP (cmH <sub>2</sub> O)	12 ± 4	13 ± 3	14 ± 4	14 ± 1
<b>Vt (mL/kg)</b>	<b>12 ± 1</b>	<b>19 ± 3</b>	<b>20 ± 1</b>	<b>21 ± 0</b>
<b>V/min (mL/min/kg)</b>	<b>129 ± 6</b>	<b>130 ± 6</b>	<b>131 ± 5</b>	<b>135 ± 1</b>

Les données sont exprimées en moyennes et écart-types.

### 3.2.2 Pertes insensibles

Le tableau 7 nous montre les caractéristiques de la pièce pendant les mesures des pertes insensibles : moyenne de l'humidité relative de 51,7% et de la température de 23,4 °C.

Tableau 7- Humidité et température de la pièce à chaque expérimentation

Agneau	Humidité	Température
1	60,1 ± 3,3	24,3 ± 0,7
2	45,7 ± 1,4	22,3 ± 0,8
3	50,2 ± 4,3	23,3 ± 0,7
4	50,2 ± 4,3	23,3 ± 0,7
5	53,2 ± 5,9	23,6 ± 0,5
6	52,9 ± 1,3	23,4 ± 0,1

Les données sont exprimées en moyenne et écart-type.

La variation de poids des agneaux a été calculée en pourcentage du poids corporel avec un gain total de poids maximal de 0,06% (agneau 2) (tableau 8), considéré comme négligeable.

La figure 14 montre la variation des pertes insensibles (calculées par la variation du poids) de chaque animal dans le temps.

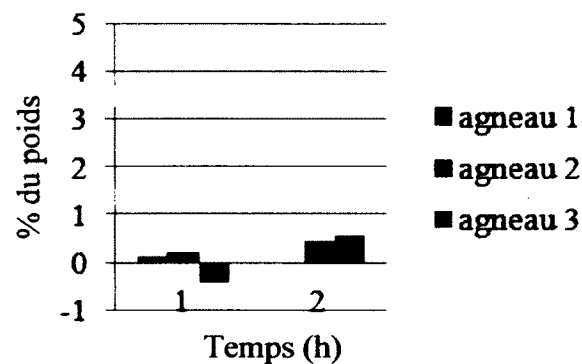


Figure 14 – Variation du poids de 3 agneaux dans le temps

Tableau 8 – Variation de poids de trois agneaux par heure, présentée en pourcentage

Agneau	1 <sup>ère</sup> heure	2 <sup>ème</sup> heure
1	+ 0,01	+ 0
2	+ 0,02	+ 0,04
3	- 0,04	+ 0,06

Une moyenne a été faite sur un total de 60 cycles au début (Minit) et à la fin (Mfin) de chaque heure d'expérimentation. Les données montrent les gains (+) et pertes (-) de poids de chaque



individu. Le résultat de la différence entre ces moyennes ( $M = M_{fin} - M_{init}$ ) a été exprimé en pourcentage du poids corporel de l'agneau à chaque heure.

### 3.2.3 Réservoir tampon et balance de précision

L'association des mesures a été estimée par le coefficient de corrélation de Pearson pour chaque agneau en établissant une valeur de  $0,8 \leq r^2 \leq 0,9$  (tableau 9 et figure 15).

La transformation logarithmique (log) des deux variables avant l'analyse a permis la normalisation des données pour comparer les approches utilisées. Cette transformation permet de montrer une relation plus claire entre les différences et les moyennes de la mesure du poids obtenue par les deux techniques chez chaque agneau (figure 14). La différence moyenne, sur l'échelle logarithmique, est de 0,62 et les limites de l'accord sont 0,04 et 1,19. De plus, ces limites sont en quelque sorte liées à l'échelle d'origine de la mesure. Les antilogarithmes de ces limites sont 1,04 et 3,28. Toutefois, l'antilog de la différence entre deux valeurs sur une échelle logarithmique est un rapport sans dimension. Les limites nous disent que pour 95% des cas environ, la mesure du poids de l'agneau obtenue par la balance sera comprise entre 1,04 et 3,28 fois la mesure obtenue par le réservoir tampon. Ainsi, le poids donné par la balance peut être 0,05 à 3 fois plus grand que celui mesuré avec le réservoir tampon. En raison de la forte corrélation et d'une quantité de données assez grande pour ce test, les intervalles de confiance sont étroits.

Tableau 9 – Pente de la corrélation entre Vpulmonaire calculé et poids mesuré par la balance chez chaque agneau

Agneau	Pente	$r^2$
1	1,0	0,9
2	0,9	0,9
3	0,9	0,8
4	1,0	0,9
5	0,9	0,8
6	1,0	0,9

La valeur de  $r^2$  a été calculée par régression linéaire. Les données sont exprimées en log.

Nous pouvons observer une tendance à la variation des droites de la moyenne des différences entre le Vpulmonaire calculé et le poids mesuré par la balance des tests de Bland-Altman au cours du temps ( $p = 0$ ) (tableau 10). Cependant le  $r^2$  présente une corrélation plus faible pour les agneaux 2, 3 et 5 ( $r^2 = 0,60, 0,70$  et  $0,51$  respectivement). Le test d'homogénéité des pentes des 6 agneaux ne donne pas un résultat significatif ( $p = 0,84$ ), ce qui indique que la pente de la relation est différente d'un individu à l'autre.

Tableau 10 – Coefficient de corrélation et pente entre la différence et la moyenne du Vpulmonaire calculé et le poids mesuré par la balance par agneau

Agneau	Pente	$r^2$
<b>1</b>	<b>-818</b>	<b>0,97*</b>
2	-345	0,60*
<b>3</b>	<b>-515</b>	<b>0,70*</b>
4	-876	0,94*
<b>5</b>	<b>-410</b>	<b>0,51*</b>
6	-742	0,95*

La valeur de  $r^2$  a été calculée par régression linéaire. Les données sont exprimées en log.

\* $p < 0,001$

Régression linéaire entre le Vpulmonaire et le poids de la balance  $\pm 2$  écart-types

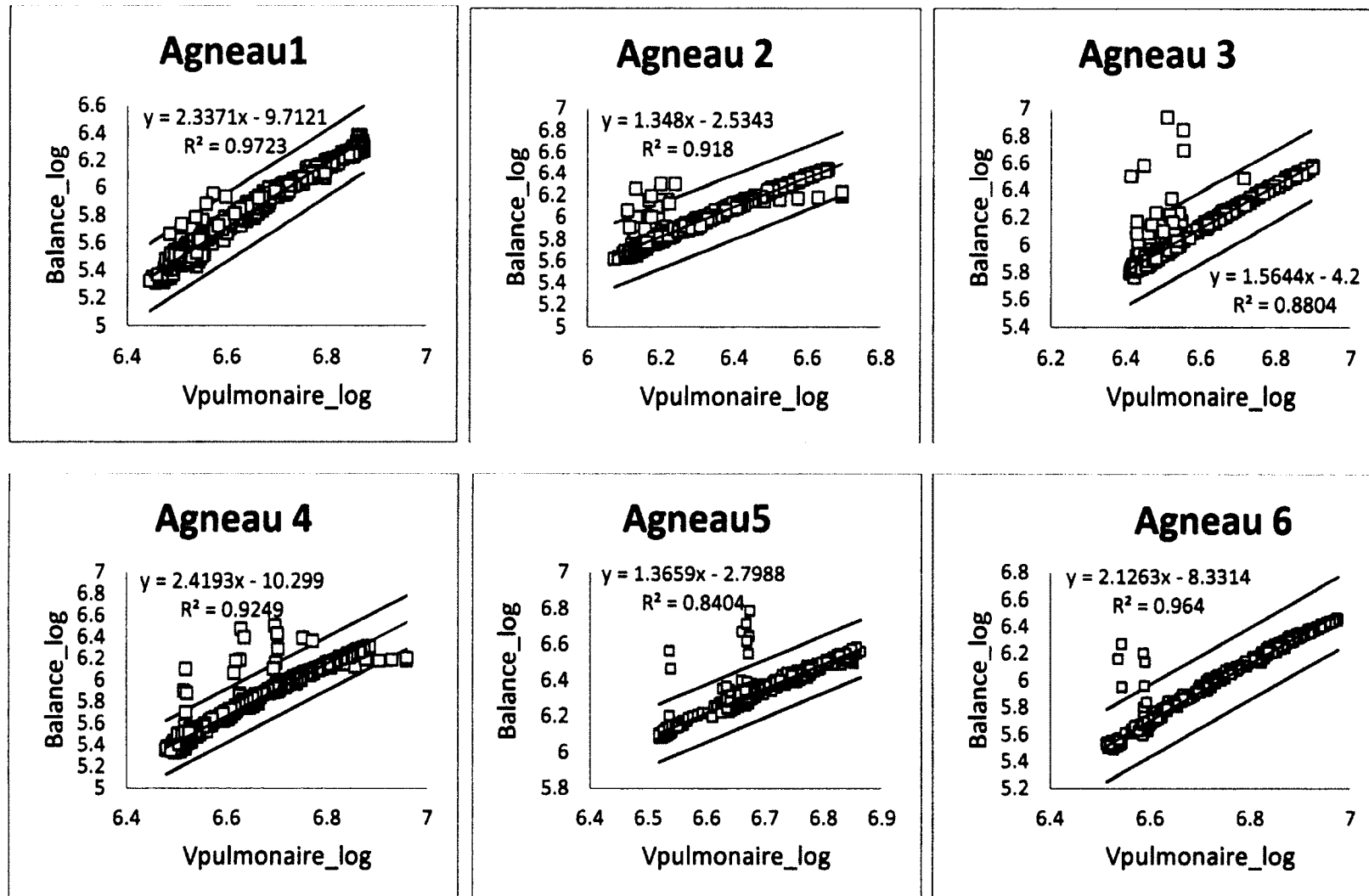
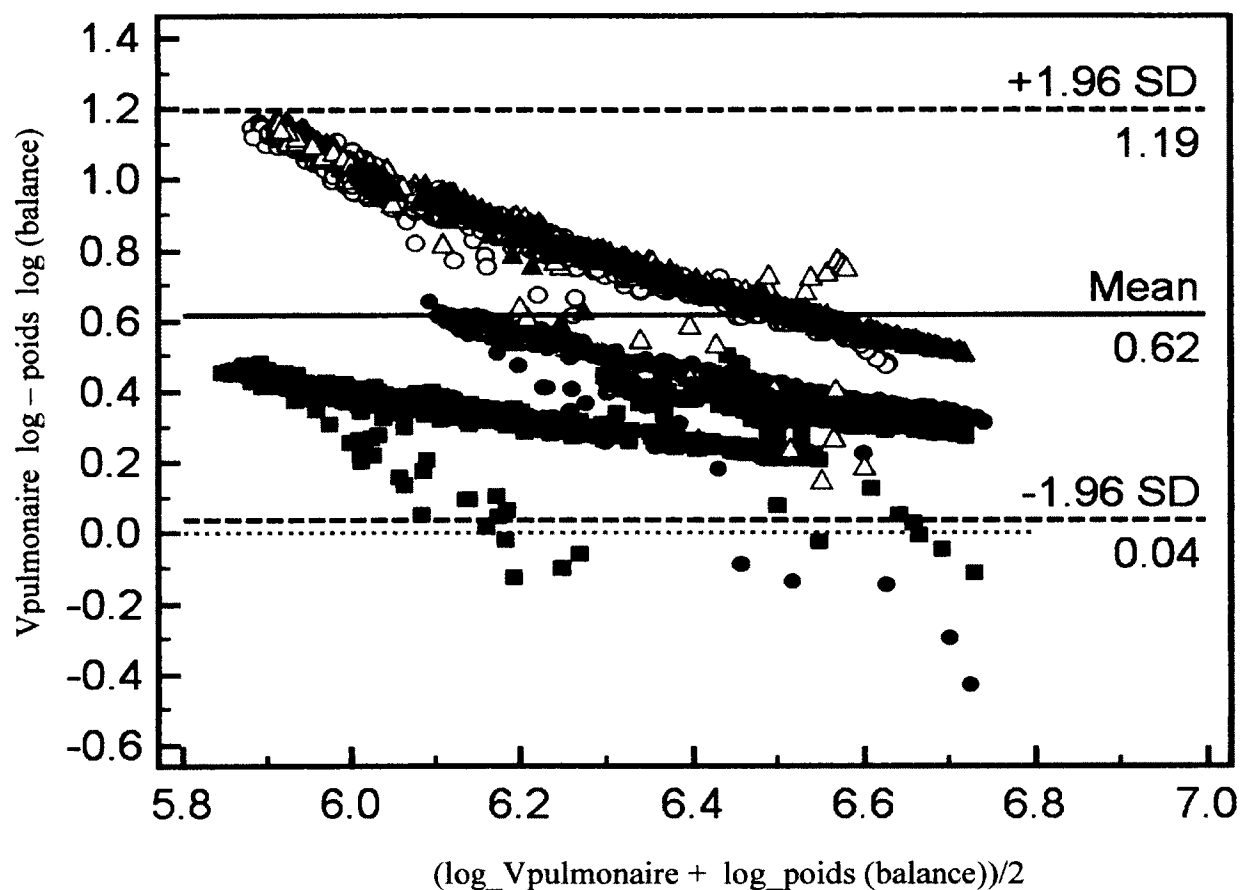


Figure 15 – Régression linéaire entre le Vpulmonaire calculé et le poids mesuré par la balance. Les données sont exprimées en log

## Test de Bland-Altman



○ Agneau 1    △ Agneau 2    ● Agneau 3    □ Agneau 4    ■ Agneau 5    ▲ Agneau 6

Figure 16 – Graphique de Bland-Altman : concordance entre le  $V_{\text{pulmonaire}}$  mesuré à partir du réservoir tampon et poids de l'animal donné par la balance de précision. Les courbes des 6 agneaux sont représentées.

### 3.2.4 Mécanique du système respiratoire

#### A) Évaluation paramétrique pendant la phase test

La mécanique du système respiratoire a été évaluée à partir des variations de la pression à travers le système respiratoire et des variations du  $V_{\text{pulmonaire}}$ . Les tableaux 11 et 12 montrent ces variations en médianes et centiles (25<sup>e</sup>; 75<sup>e</sup>). La PEEP (cmH<sub>2</sub>O)

était contrôlée par l'expérimentateur, avec un minimum de 4,6 (2,6; 6,6) et un maximum de 11,4 (9; 12,5) lors du 1<sup>er</sup> essai, et une variation similaire qui oscillait entre 4,8 (2,8; 6,4) et 11,2 (8,8; 12,7) lors du 2<sup>ème</sup> essai. La PEIP variait en fonction de la PEEP, avec un minimum de 13,4 (9,3; 17,2) et un maximum de 23,5 (20,5; 30) lors du 1<sup>er</sup> essai, et une variation similaire lors du 2<sup>ème</sup> essai, allant de 13,3 (8,7; 16,6) à 22,9 (16,9; 29,9). La compliance statique (mL / cmH<sub>2</sub>O) variait de façon similaire lors des 2 essais, oscillant entre 3 (2,7; 3) et 2 (1,7; 2).

Tableau 11 - Mesure de la compliance du système respiratoire, 1<sup>er</sup> essai

Phase test - 1 <sup>er</sup> essai				
Temps	Variation de la PEEP (cmH <sub>2</sub> O)	Variation de la PEIP (cmH <sub>2</sub> O)	Variation du poids (g/kg)	Compliance statique (mL/ cmH <sub>2</sub> O)
T1	4,6 (2,6; 6,6)	13,4 (9,3; 17,2)	83 (71; 97)	3 (2,7; 3)
T2	7,6 (5,5; 9,2)	16,5 (9,4; 21,2)	111 (99; 129)	3 (2,7; 4)
T3	11,4 (9; 12,5)	23,5 (20,5; 30)	158 (151; 167)	2 (1,7; 2)
T4	5,5 (2,8; 9,2)	13,4 (9,3; 17,2)	120 (107; 136)	3 (2,7; 4)
T5	6,2 (4,7; 6,6)	13,7 (11,6; 15,6)	88 (78; 98)	3,5 (3; 4)

Les résultats sont exprimés par la médiane et les centiles 25<sup>e</sup>; 75<sup>e</sup>.

Tableau 12 - Mesure de la compliance du système respiratoire, 2<sup>ème</sup> essai

Phase test - 2 <sup>ème</sup> essai				
Temps	Variation de la PEEP (cmH <sub>2</sub> O)	Variation de la PEIP (cmH <sub>2</sub> O)	Variation du poids (g/kg)	Compliance statique (mL/ cmH <sub>2</sub> O)
T1	4,8 (2,8; 6,4)	13,3 (8,7; 16,6)	89 (75; 105)	3,5 (2,7; 4)
T2	7,7 (5,1; 9,2)	15,7 (10,6; 20,5)	115 (110; 139)	3,5 (2,7; 4)
T3	11,2 (8,8; 12,7)	22,9 (16,9; 29,9)	164 (155; 174)	2 (1,7; 2)
T4	5,5 (2,8; 9,2)	13,4 (9,3; 17,2)	120 (107; 136)	3 (2,7; 4)
T5	6,3 (4,5; 7)	13,4 (11,5; 16,3)	92 (86; 108)	3,5 (3; 4,2)

Les résultats sont exprimés par la médiane et les centiles 25<sup>e</sup>; 75<sup>e</sup>.

## B) Courbe pression-volume

L'analyse de la courbe P-V nous a permis d'évaluer la compliance du système respiratoire à la fin de chaque expérimentation par la corrélation entre les variables pression et  $V_{\text{pulmonaire}}$ . L'insertion d'un volume maximal de 80 ml/kg nous permettrait d'identifier une surdistension en maintenant l'intégrité pulmonaire. Cette valeur a été basée sur des résultats obtenus lors d'expérimentations antérieures dans notre laboratoire (Robert et al., 2009).

Une corrélation non-paramétrique de Spearman (rho de Spearman) a été appliquée aux variations de pression et volume ( $\Delta P$  et  $\Delta V$ ) à l'inspiration et à l'expiration de chaque agneau étudié. Un coefficient égal à 1 a été obtenu à l'inspiration chez les agneaux 1, 2, 3 et 4, ainsi qu'à l'expiration chez les agneaux 1, 2, 3 et 5 (tableau 13). De plus, un coefficient de corrélation de Spearman plus grand que 0,91 a été obtenu à l'inspiration chez les agneaux 5 et 6, ainsi qu'à l'expiration chez les agneaux 4 et 6. Tous les coefficients sont statistiquement différents d'une corrélation nulle (tous les  $p < 0,01$ ).

Tableau 13 – Coefficient de corrélation de Spearman entre  $\Delta P$  et  $\Delta V$  pour chaque agneau à l'inspiration et à l'expiration

rho de Spearman				
Agneau	n	Inspiration	n	Expiration
1	16	1	15	1
2	14	1	14	1
3	14	1	13	1
4	16	1	14	0,95
5	11	0,99	9	1
6	15	0,99	15	0,92

n est égal au nombre d'observations par niveau.

L'analyse de la courbe P-V (figure 18) nous donne des caractéristiques comme le point d'inflexion de la courbe (supérieur et inférieur). À ce point, la pression varie de 12 à 20 cmH<sub>2</sub>O et le volume de 13 à 52 ml/kg entre les individus. La pente noire (tracée sur les graphiques des agneaux 4, 5 et 6) est représentative de la compliance du système respiratoire et, dans les cas montrés sur les graphiques (agneau 4, 5 et 6), elle correspond au coefficient de corrélation de Spearman.

La compliance calculée sur la courbe P-V de l'agneau 5 est plus basse, ce que peut-être expliqué par une probable surdistension pulmonaire au cours de l'expérimentation. La figure 17 montre que l'animal a développé une auto-PEEP au début de l'expérimentation.

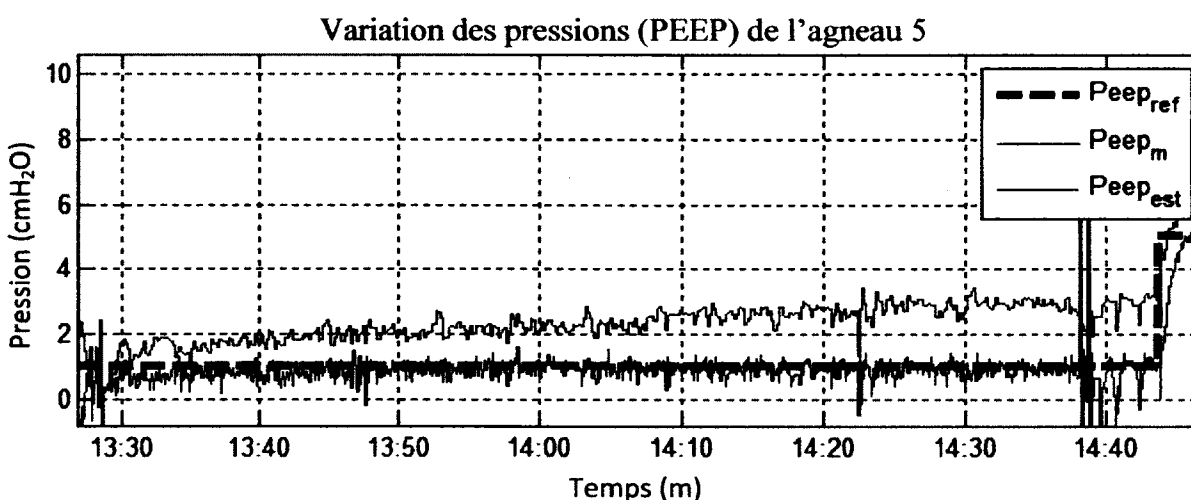


Figure 17 – Variation des pressions de l'agneau 5 mesurées au début de la VLT, avant la phase des tests. Pression positive mesurée à la fin de l'expiration (Peep), de référence (Peep<sub>ref</sub>), mesurée (Peep<sub>m</sub>) et estimée (Peep<sub>est</sub>). La pression Peep<sub>ref</sub> et Peep<sub>est</sub> sont calculées dans le prototype Inolivent-5.

Courbe pression-volume du système respiratoire

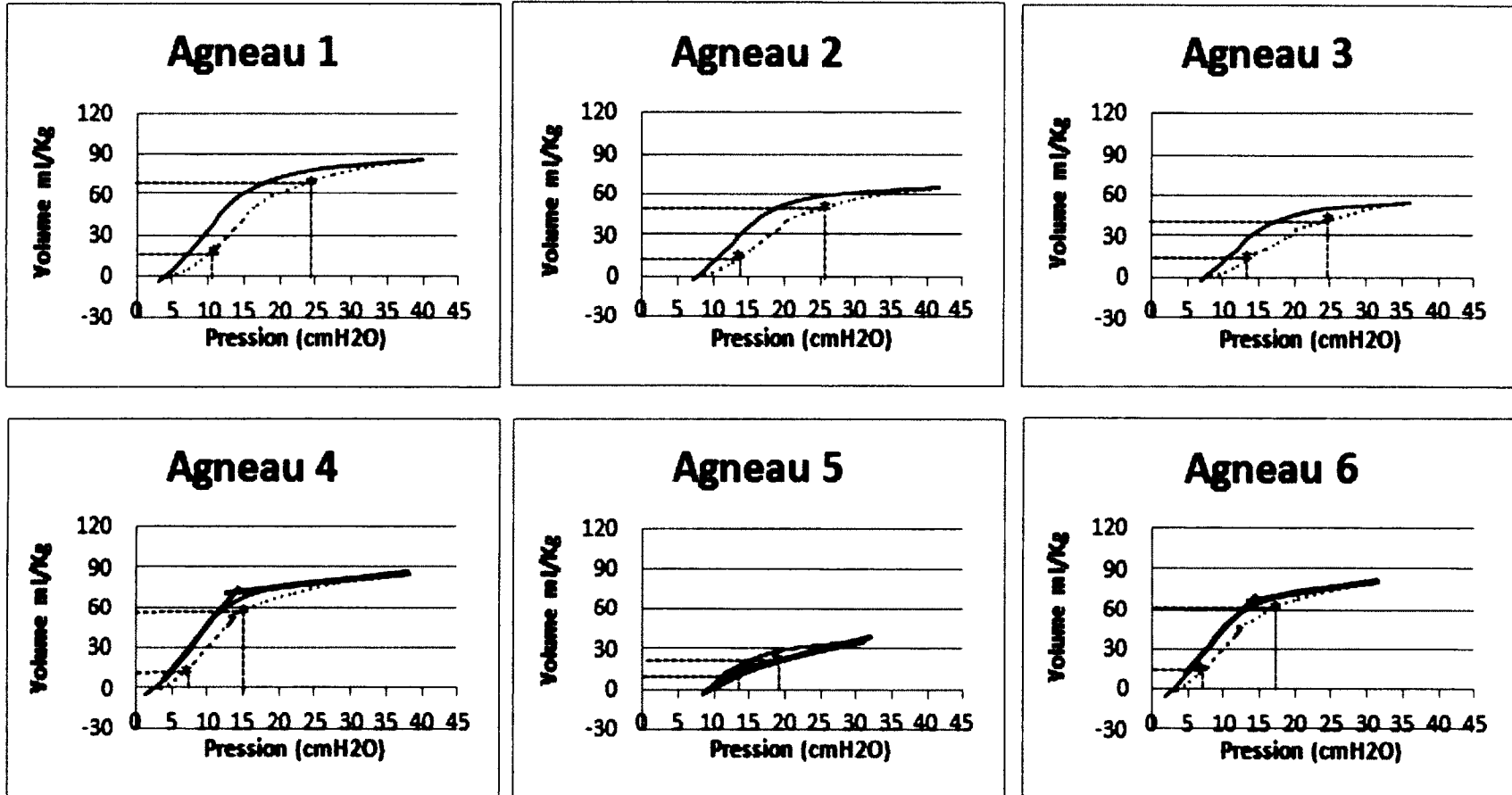


Figure 18 – Courbe P-V du système respiratoire tracé à la fin de chaque expérimentation

..... Courbe inspiratoire

— Courbe expiratoire



## 4. DISCUSSION

### *4.1 Indices hémodynamiques et ventilatoires*

Les indices hémodynamiques et ventilatoires sont en accord avec les résultats retrouvés dans des études précédentes réalisées dans notre laboratoire avec des agneaux à poumons sains (Avoine, 2011). Habituellement, lors du passage de la VMC à la VLT, il y a une variation abrupte des paramètres physiologiques (Wolfson et al., 1992). Un certain temps est nécessaire initialement pour stabiliser les échanges gazeux, les indices hémodynamiques et pour permettre au liquide PFC de remplir les poumons complètement et de façon homogène, en raison de la haute densité du PFC (de 1,58 à 2,02 g/mL) (Adapté de Wolfson et al., 1998). Par conséquent, lors du remplissage pulmonaire avec ce liquide, les fréquences respiratoires diminuent brusquement (de 60 rpm à 6 rpm) (Robert et al., 2009), la concentration d'O<sub>2</sub> dissout dans le PFC remplissant les voies respiratoires est presque 2 fois plus grande que dans l'air et le CO<sub>2</sub> peut être jusqu'à 4 fois plus concentré que dans l'air (Tooley et al., 1996; Gollan et al., 1970). Ceci va entraîner une variation des paramètres hémodynamiques, en réponse aux variations des paramètres ventilatoires requis par l'expérimentateur lors de la transition VMC/VLT (Wolfson et al., 1992). En général, les liquides PFC présentent des caractéristiques qui permettent la protection des tissus des voies respiratoires au cours de la VLT (Kylstra et al., 1972; Ruefer et al., 1970). La basse tension de surface et les propriétés anti-inflammatoires (Andrade et al., 2002) et cytoprotectrices (Baba et al., 2000) permettent des échanges gazeux à des pressions de ventilation basses, ce qui protège les poumons des barotraumatismes et de l'inflammation, en améliorant les résultats à long terme (Pohlmann et al., 2011). L'évaluation de ces paramètres au cours de la VLT, donc, nous a permis d'assurer un niveau de paramètres physiologiques idéal ou le plus proche possible des paramètres de base, ainsi que de nous guider à une intervention au besoin.

Le modèle néonatal ovin a été validé dans notre laboratoire, et dans plusieurs autres études de physiologie et mécanique du système respiratoire (Leach et al., 1995;

Herman et al., 1996; Fox et al., 1997), comme un modèle représentatif du nouveau-né humain. Le fait d'utiliser des agneaux à poumons sains nous a permis d'acquérir des paramètres mécaniques ventilatoires de base qui pourront servir de référence pour d'autres études expérimentales. Il est très important, pour la suite de ce modèle expérimental, de réaliser d'autres études avec des agneaux à poumons malades. Cette approche nous permettra d'avoir des résultats et des données encore plus pertinentes, visant l'utilisation du prototype Inolivent-5 pour le traitement des maladies respiratoires des nouveau-nés dans les USIN néonatales.

#### **4.2 Pertes insensibles**

La technique utilisée pour mesurer les pertes insensibles n'a jamais été décrite pour les agneaux nouveau-nés en VLT. Dans cette étude, la variation de poids des agneaux a été calculée en pourcentage du poids et un gain total maximal de 0,06% (agneau 2) de poids a été observé. De ce fait, par rapport au poids des agneaux utilisés dans les expérimentations ( $3,68 \pm 0,63$  Kg), les pertes insensibles ont été considérées comme négligeables.

Les pertes insensibles d'eau (IWL) transcutanées (TEWL) et respiratoires (RWL) sont un moyen important d'éliminer la chaleur du corps (Marks, 1979), ce qui peut entraîner une variation de poids. Le suivi de l'IWL, basé sur la mesure du poids de l'animal, était considéré comme important pour bien connaître le modèle utilisé dans nos expérimentations. Dans notre étude, l'estimation de la variation de poids des agneaux a été faite en calculant cette variation en pourcentage du poids total; ainsi, le gain total maximal était de 0,06% du poids corporel (tableau 8). Ces résultats sont considérés donc négligeables par rapport au poids de l'individu. Notre hypothèse pour expliquer le gain de poids observé durant les mesures des pertes insensibles est basée sur la présence de l'humidificateur dans le circuit inspiratoire du ventilateur pendant les expérimentations, pouvant entraîner un déséquilibre entre le poids des perfusions injectées en continu dans l'animal et les pertes insensibles. De plus, la présence de la couverture en plastique a certainement contribué à la diminution de l'IWL. Une attention particulière a été accordée à l'influence des variations de l'environnement sur la précision de la pesée et sur

les IWL. L'humidité de la pièce de 51,7%, que nous avons maintenue tout au long de nos expérimentations, est en accord avec la nécessité de maintenir un taux d'humidité supérieur à 40% pour l'obtention d'un IWL "normal". L'établissement de conditions basales pour les mesures de variations du poids est une partie importante de l'évaluation des pertes insensibles en fonction de la dépense d'énergie. Les TEWL et RWL sont une voie finale importante du métabolisme de l'eau (Lister, 1967).

La mesure de l'IWL ou ses composants, TEWL et RWL, est difficile chez les nouveau-nés. Certaines difficultés sont reliées à la nature du sujet à l'étude, en raison de l'imprécision des appareils de mesure. La taille des sujets étudiés signifie que de petites quantités d'eau sont émises dans une période de temps déterminée. Par conséquent, la précision des instruments de mesure doit être élevée. Malgré les difficultés à obtenir des estimations d'IWL chez les nouveau-nés, plusieurs études antérieures ont fourni des données utiles en clinique (Doyle etand Sinclair, 1982). Une étude chez 10 nourrissons en santé, avec un âge et poids similaires, a montré que la perte de poids par heure a varié entre 1,9 et 3,1 g/kg de poids corporel. Les expérimentations on était faites à l'intérieur d'un incubateur fermé dans des conditions contrôlées. Une balance commerciale adaptée a été utilisée pour mesurer les variations de poids, enregistré à environ 30 minutes d'intervalle. La balance a été tarée avant de placer l'enfant dans l'incubateur et il n'y avait pas de modifications de l'activité de l'enfant pendant les mesures (Lister, 1967).

Chez les ovins, la littérature rapporte des données contradictoires sur l'importance relative de l'évaporation cutanée et respiratoire (Brockway, 1965). Il est bien connue que les moutons ont des glandes sudoripares du type apocrine, associées aux follicules pileux primaires (Bligh, 1961; Robertshaw, 1966). De cette façon, les échanges thermiques varient dans les différentes régions corporelles. Quand la température de l'air est proche ou égale à la température corporelle, les mécanismes de transfert thermique par convection ou conduction sont inefficaces. Dépendamment de la nature de la surface corporelle de l'animal, la charge thermique radiante est élevée. En exposant l'animal à des températures élevées, le mécanisme de thermolyse le plus efficace est l'évaporation, qui est indépendante de la différence de température entre l'organisme et l'atmosphère

(Silva, 2003; Brockway, 1965). Cependant, ces études ont été réalisées avec des moutons adultes. Jusqu'à présent, la littérature ne nous a apporté aucun résultat sur les pertes insensibles chez les agneaux nouveau-nés. Ainsi, nos résultats ne peuvent pas être comparés à d'autres études antérieures.

### ***4.3 Méthodes d'estimation du volume pulmonaire***

#### **4.3.1 Débitmètre**

Le débit ventilatoire mesuré par le débitmètre présente une dérive importante au cours du temps, qui fait que, malgré la possibilité d'obtenir une mesure précise du débit de PFC à un moment défini du cycle respiratoire, les valeurs obtenues en continu ne sont pas fiables dans les expérimentations prolongées. Ainsi, les résultats obtenus avec le débitmètre au cours de cette étude ne seront pas discutés.

#### **4.3.2 Réservoir tampon et balance de précision**

Notre étude expérimentale a montré une corrélation élevée entre les variations du volume pulmonaire mesurées par la technique du réservoir tampon du prototype Inolivent-5 et les variations du poids de l'agneau mesurées par la balance de précision. Le coefficient de corrélation de Pearson est en effet élevé pour tous les agneaux, avec une valeur de  $0,8 \leq r^2 \leq 0,9$ . Cependant, le test de Bland-Altman montre une incertitude importante sur la valeur du volume pulmonaire mesuré avec le réservoir tampon, ce volume pouvant être jusqu'à 3 fois plus petit que celui mesuré par notre référence, la balance de précision. Ainsi, les résultats de nos études montrent que le réservoir tampon du prototype Inolivent-5 ne permet pas pour le moment le contrôle exact du volume de liquide PFC dans les poumons. Les études doivent se poursuivre pour tenter d'améliorer les performances de la mesure à partir du réservoir tampon, ou pour mettre au point une autre technique qui n'obligerait pas à utiliser le suivi du poids de l'animal, dont l'utilisation est peu envisageable en clinique en raison des multiples manipulations nécessaires des patients en soins intensifs.

Plusieurs aspects de la VLT ont été étudiés et validés en expérimentation animale (Avoine et al., 2011; Bossé et al., 2010<sup>b</sup>; Greenspan, 1996; Hirschl, 1996; Shaffer et al.,

1976). De plus, des essais humains ont prouvé l'efficacité de la technique. Les premières expériences humaines avec la VLT ont été menées à Philadelphie, Pennsylvanie, sur des nourrissons très malades souffrant d'insuffisance respiratoire terminale (Greenspan et al., 1990). Quoique tous les nourrissons dans cette étude aient succombé à leur maladie respiratoire gravissime sous-jacente, il a été montré que la VLT a été en mesure de soutenir les échanges gazeux en permettant une amélioration de la fonction pulmonaire résiduelle après le retour à la VG. D'autres études cliniques ont été limitées par la nécessité d'un ventilateur liquide approuvé pour utilisation médicale, ainsi qu'un liquide respiratoire de grade médical (Weis et al., 1997).

Cette stratégie de VLT permet un contrôle précis du  $V_t$ , des pressions des voies respiratoires, de la pression alvéolaire et de la CRF (Pohlmann et al., 2011; Tooley et al., 1996; Weis et al., 1997). Cependant, le volume total de PFC présent dans les poumons au cours de la VLT restait inconnu. Dans cette étude nous avons observé une variation de poids (g) entre 83 (71; 97) et 158 (151; 167) et entre 89 (75; 105) et 164 (155; 174) dans deux essais différents, sur les conditions expérimentales établies pendant la « phase test ». Cette variation de poids, mesurée par la balance, correspond à une variation de volume (mL) de 163 (139; 190) à 310 (296; 327) et de 175 (147; 206) à 321 (304; 341) dans les 2 essais respectivement, selon la densité du liquide PFC (1,96 g/mL à 25° C et 1 ATM) utilisé.

Nos résultats montrent que la mesure du niveau du réservoir tampon ne nous permet pas de suivre avec précision le volume de PFC présent dans les poumons, actuellement.

#### **4.3.3 Analyse des courbes pression-volume**

L'analyse de la courbe P-V pulmonaire nous a permis d'évaluer la compliance du système respiratoire à la fin de chaque expérimentation par l'analyse de la corrélation entre les variations de pression à travers le système respiratoire et les variations du volume pulmonaire. Les résultats nous montrent une forte corrélation entre ces variables avec un rho de Spearman plus grand que 0,91 dans la totalité des cas.

La mesure de la compliance du système respiratoire à partir des courbes P-V semble permettre l'identification d'une surdistension pulmonaire pendant la phase expérimentale dans notre étude (figure 18). La mesure de la courbe P-V du système respiratoire est une méthode permettant d'analyser les propriétés mécaniques statiques du système respiratoire. Le point d'inflexion inférieur de la courbe détermine le niveau minimal de PEEP à partir duquel commence le recrutement alvéolaire (Gattinoni et al., 1987). Le point d'inflexion supérieur fixe le niveau de pression à ne pas dépasser sous peine de voir apparaître un risque de barotraumatisme par surdistension (Fisher et al., 1988). Ainsi, les trois principales anomalies qui peuvent caractériser l'altération d'une courbe P-V (Matamis et al., 1984) sont : le point d'inflexion inférieur, qui correspond à la pression d'ouverture de régions collabées; la réduction de la pente de la courbe P-V dans sa partie linéaire, qui permet de quantifier la sévérité de l'atteinte pulmonaire (Gattinoni et al., 1987); et l'abaissement du point d'inflexion supérieur (Hickling, 1998). Notre étude montre un point d'inflexion inférieur où les pressions varient de 7 à 14 cmH<sub>2</sub>O et le volume de 10 à 15 mL/kg; le point d'inflexion supérieur présente une variation plus prononcée de 20 à 65 mL/kg, selon les individus, ce qui nous permet d'identifier l'intégrité des poumons à la fin des expérimentations, c'est-à-dire, l'absence de sous ou surdistension. Les résultats obtenus avec le coefficient de corrélation de Spearman (> 0,91) montrent la force de la corrélation entre la pression du système respiratoire et le volume pulmonaire imposés lors de la modélisation de l'élasticité pulmonaire de chaque animal, ce que caractérise bien le modèle des courbes P-V. La compliance calculée sur la courbe P-V de l'agneau 5 est plus basse, ce qui est peut-être expliqué par une surdistension pulmonaire au cours de l'expérimentation. En effet, l'animal a développé une auto-PEEP au début de l'expérimentation (figure 17) qui semblait avoir été résolue avant la phase expérimentale. Cependant, le fait que cet animal présente une compliance plus basse que les autres animaux suggère que cette distension initiale joue un rôle dans la compliance du système respiratoire.

La technique de mesure de la courbe P-V permet, d'une part, d'évaluer la sévérité et l'évolution de la maladie pulmonaire, d'autre part, de guider les réglages ventilatoires

afin d'optimiser la ventilation mécanique (Amato et al., 1998). Cependant, en VLT, la réalisation du tracé de la courbe P-V est encore complexe, et pour avoir une courbe statique complète, le temps de pause respiratoire minimal nécessaire est de 30 secondes. Ainsi, des études additionnelles sont nécessaires pour que la courbe P-V puisse être un outil capable de caractériser la compliance pulmonaire pendant la VLT.

La disponibilité d'un test simple, intégré au prototype Inolivent-5 et suffisamment sensible pour permettre la détection des sous/surdistention pulmonaires des nouveau-nés, faciliterait le suivi systématique des patients malades en clinique.

#### ***4.1 Les limites de l'étude***

La taille de notre échantillon ( $n = 6$ ) semble avoir limité les résultats de l'étude. D'autres études sur un plus grand nombre d'animaux sont nécessaires pour mieux comprendre les variations interindividuelles et pour avoir des résultats plus représentatifs. De plus, des expérimentations devront être réalisées sur un modèle animal avec des poumons malades.

## 5. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

À notre connaissance, cette étude est la première à mesurer le volume de PFC pendant une VLT de 4 heures chez des agneaux sains. Nous avons étudié, pour la première fois, la précision et l'efficacité des outils présents dans notre prototype de ventilateur liquidienn total, Inolivent-5. Nos résultats, partiels pour l'instant, montrent que le volume pulmonaire de PFC ne peut être mesuré par la technique du réservoir tampon du prototype Inolivent-5 actuellement. Cependant, les études continuent pour améliorer cette technique en espérant un jour obtenir une mesure fiable à ce niveau qui permettra de l'intégrer au ventilateur Inolivent pour utilisation en clinique.

Dans nos conditions expérimentales, la courbe P-V s'est montrée comme un bon indicateur de la surdistension pulmonaire, identifiée par la diminution de la compliance au cours de la VLT. Cependant, le développement d'une technique qui nous permettra de suivre les caractéristiques élastiques et résistives du système respiratoire en continu durant la VLT est désirable. La technique des oscillations forcées (TOF), déjà étudiée dans notre laboratoire (Bossé et al., 2010<sup>a</sup>), est une alternative prometteuse à cet effet.

D'autres études expérimentales avec un groupe d'animaux avec poumons malades seront aussi nécessaires pour valider la fiabilité des méthodes de mesure du volume pulmonaire. Ces études devront être réalisées avec un plus grand nombre d'agneaux et donc une puissance plus importante pour confirmer cette fiabilité. Cette étape est nécessaire pour augmenter la sécurité de la VLT dans le traitement de pathologies respiratoires des nouveau-nés et en visant l'introduction de la technique dans les USINs des hôpitaux.

Par ailleurs, les résultats de cette étude nous poussent à réfléchir à la technique de remplissage pulmonaire au début de la VLT. Une grande variation des paramètres ventilatoires, comme la PEEP, la PEIP, le Vmin et la FR a été observée initialement entre les individus, et le temps nécessaire pour la stabilisation de ces paramètres a aussi été très variable d'un individu à l'autre (données non publiées).



De nouvelles recherches sont donc nécessaires pour que nous puissions être en mesure d'optimiser notre prototype. Le bon contrôle du volume de PFC lors d'une VLT est fondamental pour introduire la VLT dans les unités de soins intensifs pour des applications cliniques.

## 6. REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je remercie Dieu pour la sagesse quand je manquais d'inspiration, pour la force quand je n'avais plus de courage et pour la compagnie quand j'étais dans la solitude.

À mes parents, Antonio et Marinalva Germim pour la présence, même distantes; pour la compagnie, le soutien, mais surtout pour l'amour. À mon frère Eros Germim, pour m'avoir enseigné à avoir la persévérance et l'ingéniosité au travail.

Je remercie, aussi, mes amis et collègues de travail : Dr Hervé Walti pour l'opportunité offerte et de m'avoir accueilli dans son laboratoire, en me confiant un travail d'extrême importance; Dr Jean-Paul Praud pour surveiller mon travail et pour les enseignements ponctuels très importants; Dr Raymond Robert pour l'appui quotidien et pour leur patience dans les enseignements mathématiques et physiques, sans lesquels je ne pouvais pas avancer dans mon travail; Dr Philippe Micheau pour les sages paroles dans les réunions d'équipe; aux amis Mathieu Nadeau, Olivier Avoine et Jonathan Vandamme pour les bons moments de travail et les informations partagées. Les stagiaires qui sont passés par le laboratoire : Julien Mousseau, Quentin Horn, Elise Gullickson-Larouche et Florine Weil. Merci de votre participation dans la construction d'une étape extrêmement importante de ma vie professionnelle et personnelle.

Les enseignants, qui méritent toujours un hommage pour la dissémination de leur sagesse. Aussi, le personnel de l'université toujours disponible en cas de besoin.

Je remercie fortement à mon amie Ana Maymone pour les heures de discussions et de travail ensemble, ainsi que tout le soutien pendant cette phase importante de ma vie. À mes amis Camila Roncato, Marlon Capanema, Rafael Almeida et Yannick Brouillette, qui ont participé directement et indirectement à la réalisation de ce grand projet de ma vie, je vous remercie!

## 7. REFERENCES

Alvarez, F.J., Gastiasoro, E., Rey-Santano, M.C., Gomez-Solaetxe, M.A., Publicover, N.G., and Larrabe, J.L. (2009). Dynamic and quasi-static lung mechanics system for gas-assisted and liquid-assisted ventilation. *IEEE Trans Biomed Eng*, 56 (7), 1938-1948.

Amato, M.B.P., Barbas, C.S.V., Mediros, D.M., Magaldi, R.B., Schettino, G.P.B., Lorenzi-Filho, G., Kairalla, R.A., Deheinzelin, D., Munoz, C., Oliveira, R., Takagaki T.Y., Carvalho, C.R.R. (1998). Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 338 (3), 347-354.

Andrade, C.F., Fortis, E.A.F., Cardoso, P.F.G. (2002). Liquid ventilation: literature review. *J Pneumologia*, 28 (6).

Avoine, O., Bossé, D., Beaudry, B., Beaulieu, A., Albadine, R., Praud, J.P., et al. (2011). Total liquid ventilation efficacy in an ovine model of severe meconium aspiration syndrome. *Crit Care Med*, 39 (5), 1097-1103.

Baba, Y., Taenaka, Y., Akagi, H., Nakatani, T., Masuzawa, T., Tatsumi, E., et al. (1996). A volume-controlled liquid ventilator with pressure-limit mode: imperative expiratory control. *Artif Organs*, 20 (9), 1052-1056.

Baba, A., Kim, Y.K., Zhang, H., Liu, M., Slutsky, A.S. (2000). Perfluorocarbon blocks tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-8 release from alveolar epithelial cells in vitro. *Crit Care Med*, 28, 1113-1118.

Beaulieu, A., Foucault, E., Braudb, P., Micheau, P., Szeger, P. (2011). A flowmeter for unsteady liquid flow measurements. *Elsevier*, 22, 131-137.

Bland, J.M., and Altman, D.G. (2012). Agreed statistics: measurement method comparison. *Anesthesiology*, 116 (1), 182-185.

Bland, J.M., and Altman, D.G. (1999). Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res*, 8 (2), 135-160.

Bland, J. M., and Altman, D.G. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 1 (8476), 307-310.

Bossé, D., Beaulieu, A., Avoine, O., Micheau, P., Praud, J.P., and Walti, H. (2010<sup>a</sup>). Neonatal total liquid ventilation: is low-frequency forced oscillation technique suitable for respiratory mechanics assessment? *J Appl Physiol*, 109 (2), 501-510.

- Bossé, D., Walti, H., Robert, R., Lebon, J., Lesur, O., Praud, J.P., et al. (2010<sup>b</sup>). Experimental validation of cardiac index measurement using transpulmonary thermodilution technique in neonatal total liquid ventilation. *ASAIO J*, 56 (6), 557-562.
- Brockway, J.M., McDonald, J.D. and Pullar, J.D. (1965). Evaporative heat loss mechanics in the sheep. *J Physiol*, 179, 554-68.
- Chatburn, R.L., and Primiano Jr, F.P. (2001). A new system for understanding modes of mechanical ventilation. *Respir Care*, 46 (6), 604-621.
- Clark, L.C., and Gollan, F. (1966). Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science*, 152 (3730), 1755-1756.
- Costantino, M.L., Micheau, P., Shaffer, T.H., Tredici, S., Wolfson, M.R., Symposium, 6. I., et al. (2009). Clinical design functions: round table discussions on the bioengineering of liquid ventilators. *ASAIO J*, 55 (3), 206-208.
- Fisher, J.B., Mammel, M.C., Coleman, J.M., Bing, D.R., Boros, S.J. (1988). Identifying lung overdistension during mechanical ventilation by using volume pressure loops. *Pediatr Pulmonol*, 5-10, 14-17.
- Foust, R., Tran, N.N., Cox, C., Jr, T.M., Greenspan, J.S., Wolfson, M.R., et al. (1996). Liquid assisted ventilation: an alternative ventilatory strategy for acute meconium aspiration injury. *Pediatr Pulmonol*, 21 (5), 316-322.
- Fox, W., Weis, C., Cox, C., Farina, C., Drott, H., Wolfson, M. (1997). Pulmonary administration of gentamicin during liquid ventilation in a newborn lamb lung injury model. *Pediatrics*, 100, E:5.
- Gattinoni, L., Pesenti, A., Avalli, L., Rossi, F., Bombino, M. (1987). Pressure-volume curve of total respiratory system in acute respiratory failure. Computed tomographic scan study. *Am Rev Resp Dis*, 136, 730-736.
- Gollan, F., McDermott, J., Johnson, A., Namon, R. (1970). Compliance and diffusion during respiration with fluorocarbon fluid. *Fed Proc*, 29: 1725-30.
- Greenspan, J.S. (1996). Physiology and clinical role of liquid ventilation therapy. *J Perinatol*, 16 (2), 47-52.
- Greenspan, J.S., Wolfson, M.R., Rubenstein, S.D., and Shaffer, T H. (1990). Liquid ventilation of human preterm neonates. *J Pediatr*, 117 (1), 106-111.
- Grinnan, D.C., and Truwit, J.D. (2005). Clinical review: respiratory mechanics in spontaneous and assisted ventilation. *Crit Care*, 9 (5), 472-484.

- Heckman, J.L., Hoffman, J., Shaffer, T.H., and Wolfson, M.R. (1999). Software for real-time control of a tidal liquid ventilator. *Biomed Instrum Technol*, 33 (3), 268-276.
- Herman, L., Fuhrman, B., Kaise,r R., Penfil, S., Foley, C., Papo, M. (1996). Perfluorocarbon-associated gas exchange in normal and acid-injured large sheep. *Crit Care Med*, 24, 475-81.
- Hickling, K.G. (1998). The pressure-volume curve is greatly modified by recruitment. *Am. J. Respir. Cri Care Med*, 158, 194-202.
- Hirschl, R.B. (1996). Advances in the management of respiratory failure. Liquid ventilation in the setting of respiratory failure. *ASAIO J*, 42 (3), 209-210.
- Hirschl, R.B. (2004). Current experience with liquid ventilation. *Paediatr Respir Rev*, 5 *Suppl A*, 339-345.
- Hirschl, R.B., Conrad, S., Kaiser, R., Zwischenberger, J.B., Bartlett, R.H., Booth, F., et al. (1998). Partial liquid ventilation in adult patients with ARDS: a multicenter phase I-II trial. Adult PLV Study Group. *Ann Surg*, 228 (5), 692-700.
- Hirschl, R.B., Pranikoff, T., Gauger, P., Schreiner, R.J., Dechert, R., and Bartlett, R.H. (1995). Liquid ventilation in adults, children, and full-term neonates. *Lancet*, 346 (8984), 1201-1202.
- Iotti, G.A., Braschi, A. (1999). Measurements of respiratory mechanics during mechanical ventilation Rhazurns, Switzerland: Hamilton Medical. Scientific Library.
- Kaisers, U., Kelly, K.P., and Busch, T. (2003). Liquid ventilation. *Br J Anaesth*, 91 (1), 143-151.
- Kallas, H.J. (1998). Non-conventional respiratory support modalities applicable in the older child. High frequency ventilation and liquid ventilation. *Crit Care Clin*, 14 (4), 655-683.
- Kaushal, A., McDonnell, C.G., and Davies, M.W. (2013). Partial liquid ventilation for the prevention of mortality and morbidity in paediatric acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*, 2: CD003845..
- Koen, P.A., Wolfson, M.R., and Shaffer, T.H. (1988). Fluorocarbon ventilation: maximal expiratory flows and CO2 elimination. *Pediatr Res*, 24 (3), 291-296.
- Kylstra, J.A., Paganelli, C.V., and Lanphier, E.H. (1966). Pulmonary gas exchange in dogs ventilated with hyperbarically oxygenated liquid. *J Appl Physiol*, 21 (1), 177-184.
- Kylstra, J., and Shoenfisch, W. (1972). Alveolar surface tension in fluorocarbon-filled lungs. *J Appl Physiol*, 33:32-5.

Larrabe, J.L., Alvarez, F.J., Cuesta, E.G., Valls-i-Soler, A., Alfonso, L.F., Arnaiz, A., et al. (2001). Development of a time-cycled volume-controlled pressure-limited respirator and lung mechanics system for total liquid ventilation. *IEEE Trans Biomed Eng*, 48 (10), 1134-1144.

Leach, C., Holm, B., Morin, III F., Fuhrman B., Papo, M., Stienhorn, D. (1995). Partial liquid ventilation in premature lambs with respiratory distress syndrome: efficacy and compatibility with exogenous surfactant. *J Pediatr*, 126, 412-20.

Lister, J. (1967). Insensible water loss in infants. *J Ped Surg*, 2 (6), 483-492.

Lowe, K. C. (2000). Second-generation perfluorocarbon emulsion blood substitutes. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*, 28 (1), 25-38.

Lu, Q., and Rouby, J.J. (2000). Measurement of pressure-volume curves in patients on mechanical ventilation: methods and significance. *Crit Care*, 4 (2), 91-100.

Mantell, L.L., Shaffer, T.H., Horowitz, S., 3rd, R.F., Wolfson, M.R., Cox, C., et al. (2002). Distinct patterns of apoptosis in the lung during liquid ventilation compared with gas ventilation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 283 (1), L31-L41.

Marks, H.K., Farrell, T.P., Friedman, Z., and Maisels, M.J. (1979). Intravenous Alimentation and Insensible Water Loss in Low-Birth- Weight Infants. *Pediatrics*, 63, 543-546.

Matamis, D., Lemaire, F., Harf, A., Brun-Buisson, C., Ansquer, J.C., Atlan G.(1984). Total respiratory pressure-volume curves in the adult respiratory distress syndrome. *Chest*, 86, 58-66.

Micheau, P., Robert, R., Beaudry, B., Beaulieu, A., Nadeau, M., Avoine, O., Rochon, ME., Praud, J.P., Walti, H. (2011). A Liquid Ventilator Prototype for Total Liquid Ventilation Preclinical Studies, Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications, Prof. Angelo Carpi (Ed.), ISBN: 978-953-307-268-5, InTech, Available from:  
<http://www.intechopen.com/books/progress-in-molecular-and-environmental-bioengineering-fromanalysis-and-modeling-to-technology-applications/a-liquid-ventilator-prototype-for-total-liquid-ventilationpreclinical-studies>.

Mitchell, H.H. (1928). Check formulas for surface area of sheep, in A Year's Progress in Solving Farm Problems in Illinois. Illinois Agricultural Experimental Station Annual Report.

Moore, R.E., and Jr, L.C. (1985). Chemistry of fluorocarbons in biomedical use. *Int Anesthesiol Clin*, 23 (1), 11-24.

Parker, J. C., Sakla, A., Donovan, F.M., Beam, D., Chekuri, A., Al-Khatib, M., et al. (2009). A microprocessor-controlled tracheal insufflation-assisted total liquid ventilation system. *Med Biol Eng Comput*, 47 (9), 931-939.

Pelosi, P., and Gattinoni, L. (2000). Respiratory mechanics in ARDS: a siren for physicians? *Intensive Care Med*, 26 (6), 653-656.

Pohlmann, J.R., Brant, D.O., Daul, M.A., Reoma, J.L., Kim, A.C., Osterholzer, K.R., et al. (2011). Total liquid ventilation provides superior respiratory support to conventional mechanical ventilation in a large animal model of severe respiratory failure. *ASAIO J*, 57 (1), 1-8.

Ritz, T., Bernhard, D., Arthur, B. D., Hans, F., Gregory, K. F., Andrew, H., Harry, K. et al (2002). "Guidelines for mechanical lung function measurements in psychophysiology." *Psychophysiol* 39 (5), 546-567.

Riess, J.G. (1984). Reassessment of criteria for the selection of perfluorochemicals for second-generation blood substitutes: analysis of structure/property relationships. *Artif Organs*, 8 (1), 44-56.

Robert, R., Micheau, P., Walti, H. (2009). Optimal expiratory volume profile in tidal liquid ventilation under steady state conditions, based on a symmetrical lung model. *ASAIO J*, 55 (1), 63-72.

Robert, R., Micheau, P., Avoine, O., Beaudry, B., Beaulieu, A., and Walti, H. (2010). A regulator for pressure-controlled total-liquid ventilation. *IEEE Trans Biomed Eng*, 57 (9), 2267-2276.

Ruefer, R. (1970). Surfactant and alveolar surface forces after breathing of inert fluorinated liquid. *Fed Proc*, 29 : 1813-5.

Russell, R.M. et al., 2012. Point: should positive end-expiratory pressure in patients with ARDS be set on oxygenation? Yes. *Chest*, 141(6), 1379-82, 1386-7.

Sargent, J.W., and Seffl, R.J. (1970). Properties of perfluorinated liquids. *Fed Proc*, 29 (5), 1699-1703.

Silva, R.G., and Starling, J.M.C. (2003) Evaporação cutânea e respiratória em ovinos sob altas temperaturas ambientes. *R. Bras. Zootec.* [online], 32 (6) : 2, 1956-1961.

Schwieler, G.H., and Robertson, B. (1976). Liquid ventilation in immature newborn rabbits. *Biol Neonate*, 29 (5-6), 343-353.

Shaffer, T.H., and Moskowitz, G.D. (1974). Demand-controlled liquid ventilation of the lungs. *J Appl Physiol*, 36 (2), 208-213.

Shaffer, T.H., Rubenstein, D., Moskowitz, D., and Delivoria-Papadopoulos, M. (1976). Gaseous exchange and acid-base balance in premature lambs during liquid ventilation since birth. *Pediatr Res*, 10 (4), 227-231.

Shaffer, T.H., Wolfson, M.R., and Greenspan, J.S. (1999). Liquid ventilation: current status. *Pediatr Rev*, 20 (12), e134-e142.

Shaffer, T.H., Wolfson, M.R., and Jr, L.C. (1992). Liquid ventilation. *Pediatr Pulmonol*, 14 (2), 102-109.

Stavis, R.L., Wolfson, M.R., Cox, C., Kechner, N., and Shaffer, T.H. (1998). Physiologic, biochemical, and histologic correlates associated with tidal liquid ventilation. *Pediatr Res*, 43 (1), 132-138 .

Tawfic, Q.A., and Kausalya, R. (2011). Liquid ventilation. *Oman Med J*, 26 (1), 4-9.

Tooley, R., Hirschl, R.B., Parent, A., and Bartlett, R.H. (1996). Total liquid ventilation with perfluorocarbons increases pulmonary end-expiratory volume and compliance in the setting of lung atelectasis. *Crit Care Med*, 24 (2), 268-273.

Tsagogiorgas, C., Alb, M., Herrmann, P., Quintel, M., and Meinhardt, J.P. (2011). Cardiopulmonary function and oxygen delivery during total liquid ventilation. *Pediatr Pulmonol*, 46 (10), 964-975.

Villar, J., Pérez-Méndez, L., Blanco, J., Añón, J. M., Blanch, L., Belda, J., et al. (2013). A universal definition of ARDS: the PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio under a standard ventilatory setting-a prospective, multicenter validation study. *Intensive Care Med*, 39 (4), 583-592.

Weis, C.M., Wolfson, M.R., and Shaffer, T.H. (1997). Liquid-assisted ventilation: physiology and clinical application. *Ann Med*, 29 (6), 509-517.

Wolfson, M.R., and Shaffer, T.H. (2005). Pulmonary applications of perfluorochemical liquids: ventilation and beyond. *Paediatr Respir Rev*, 6 (2), 117-127.

Wolfson, M.R., Greenspan, J.S., and Shaffer, T.H. (1998). Liquid-assisted ventilation: an alternative respiratory modality. *Pediatr Pulmonol*, 26 (1), 42-63.

Wolfson, M.R., Greenspan, J.S., Deoras, K.S., Rubenstein, S.D., and Shaffer, T.H. (1992). Comparison of gas and liquid ventilation: clinical, physiological, and histological correlates. *J Appl Physiol*, 72 (3), 1024-1031.