

Contrôle intelligent de la cavitation des microbulles à travers le crâne pour l'optimisation des thérapies ultrasonores

Paul MONDOU

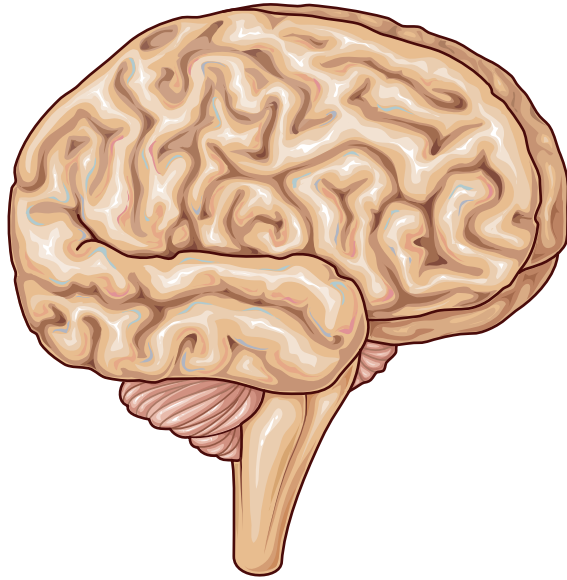
19/12/2023

Sous la direction de : Sébastien MERIAUX et Jonathan VAPPOU

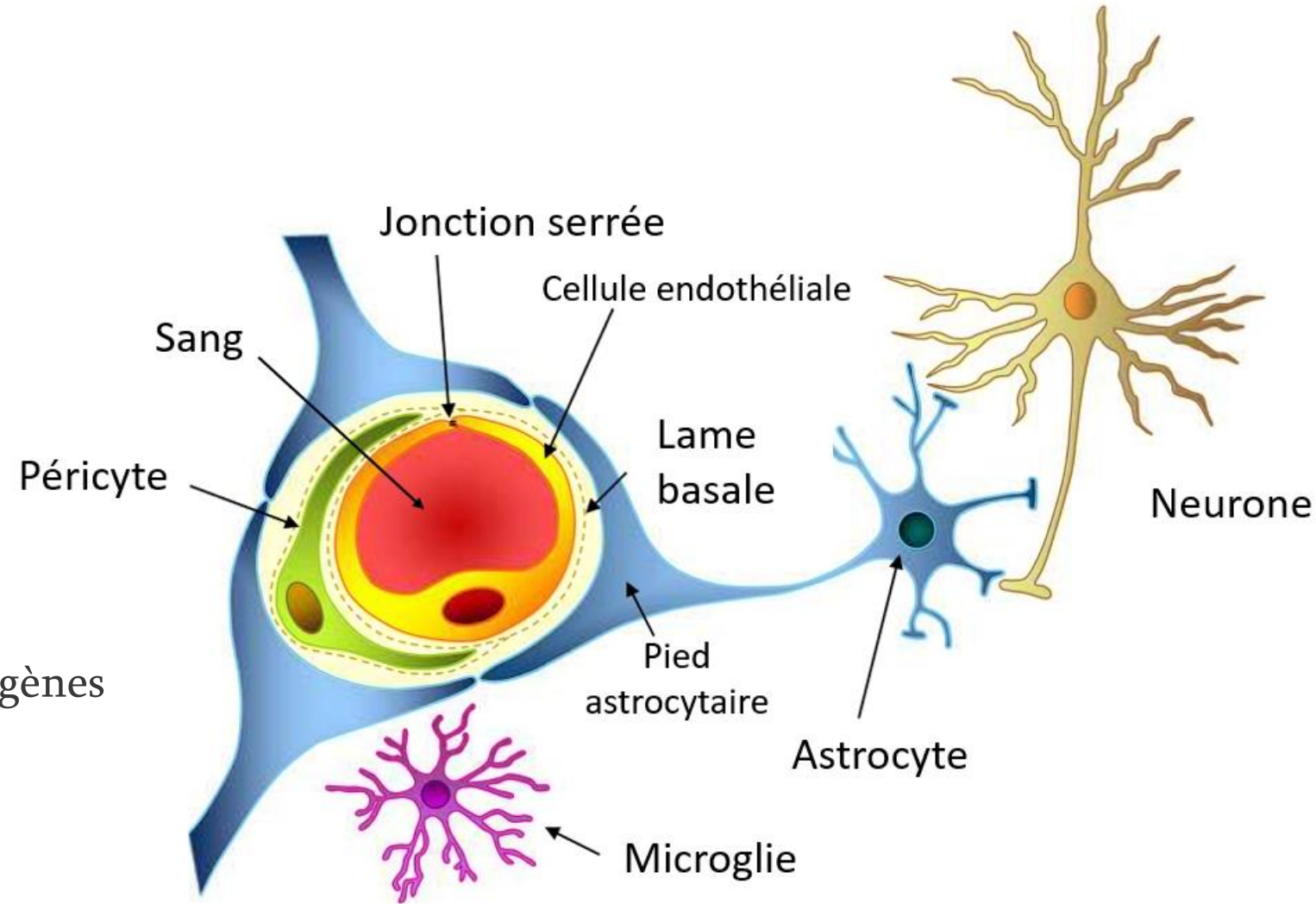
Co-encadrée par : Anthony NOVELL, Florent NAGEOTTE et Benoît LARRAT



La barrière hémato-encéphalique (BHE) protège le cerveau

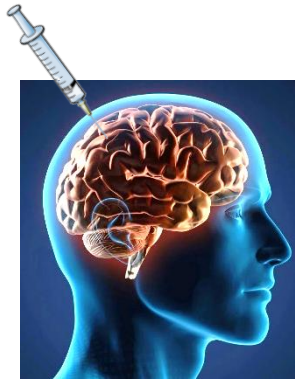


- ❑ Protège le cerveau des molécules et pathogènes
- ❑ Bloque aussi les médicaments
- Perméabilisation de la BHE nécessaire



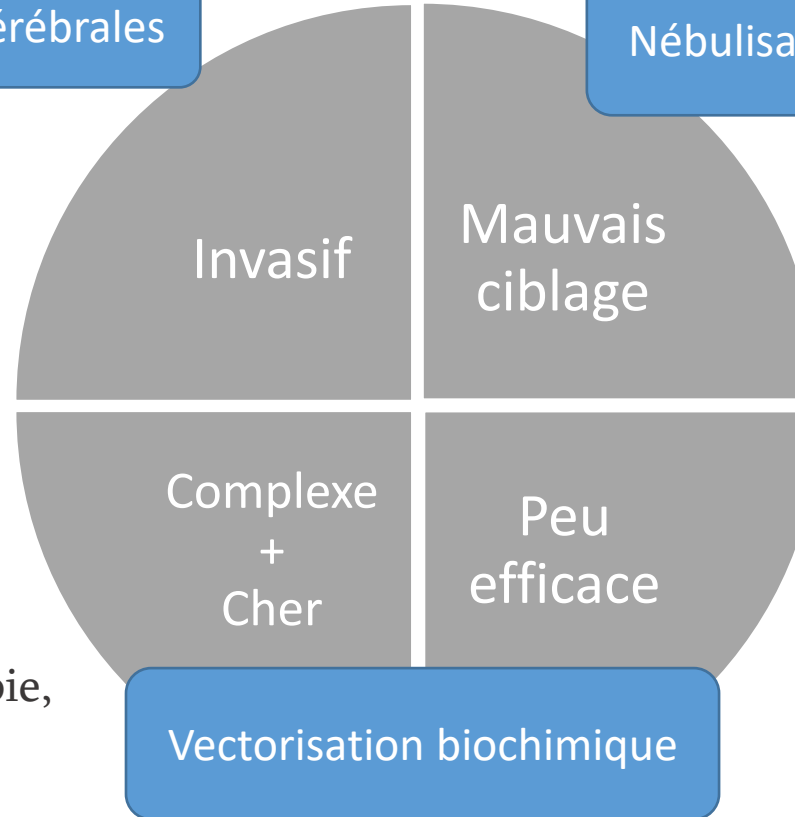


Différentes technologies s'efforcent de contourner la BHE

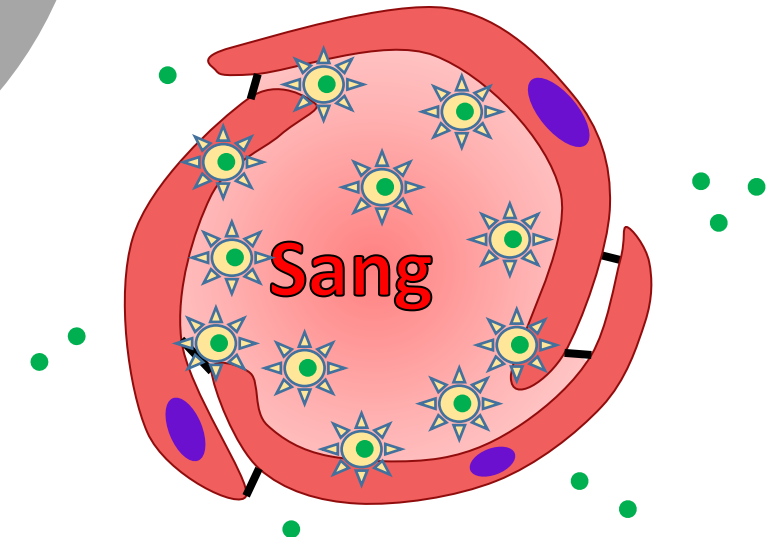


Injections intracérébrales

Nébulisations intranasales



- 95 % des médicaments n'atteignent pas le cerveau
- 100 % pour les biothérapies (immunothérapie, thérapies géniques,...) [1]
- Plus de 100 M de patients avec des maladies neurologiques en 2050 [2]

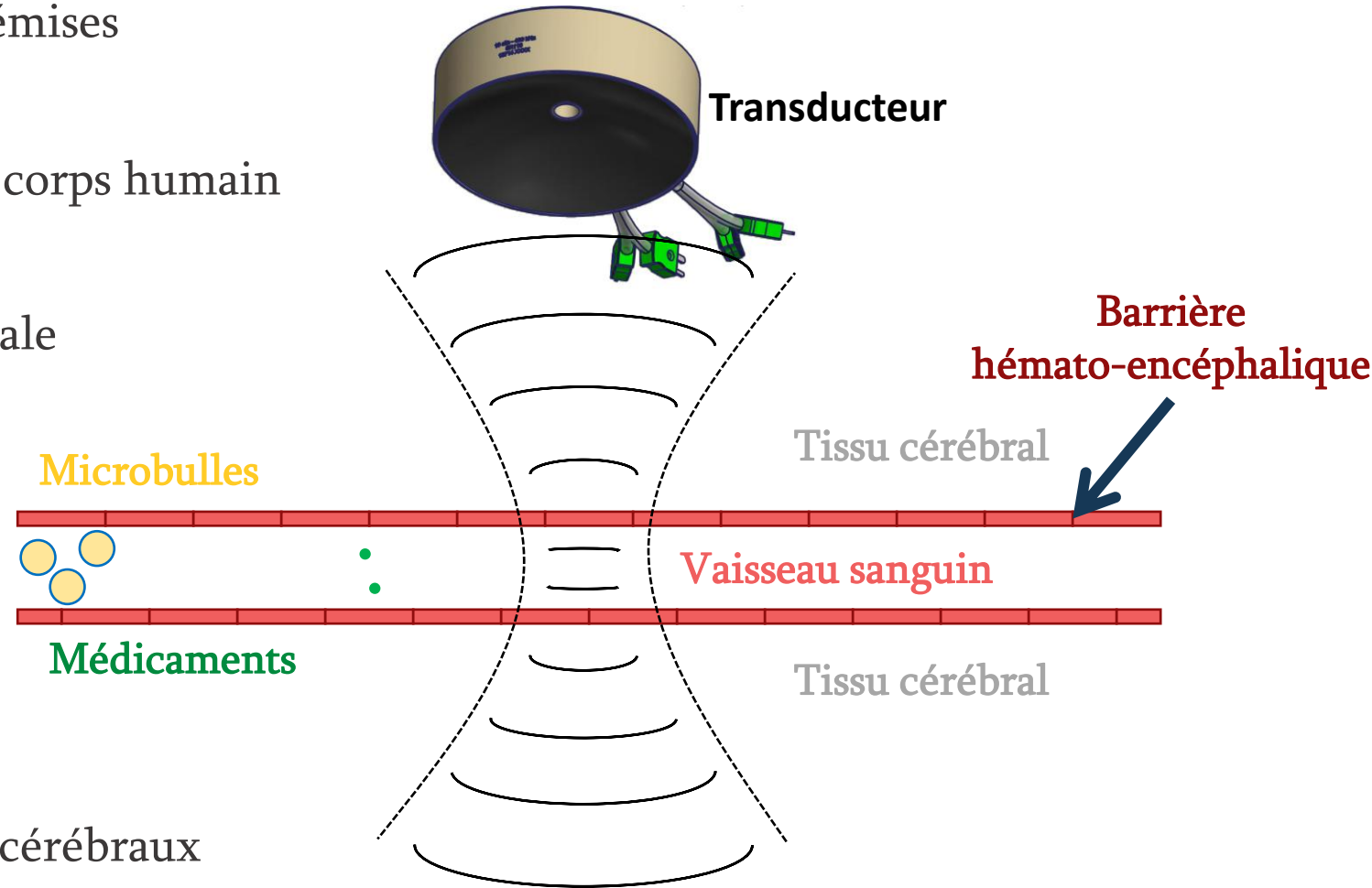


[1] World Health Organization
[2] Pardridge et al 2005, NeuroRx



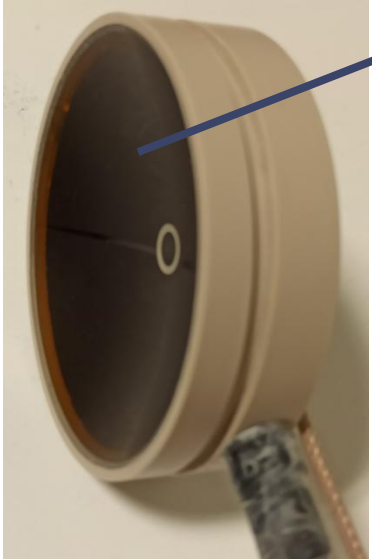
Les ultrasons focalisés peuvent perméabiliser la BHE

- Des variations de pression localisées sont émises
- Les microbulles parcourent l'ensemble du corps humain
- Elles oscillent en volume dans la tache focale
- L'action mécanique perméabilise la BHE
- Les molécules peuvent atteindre les tissus cérébraux





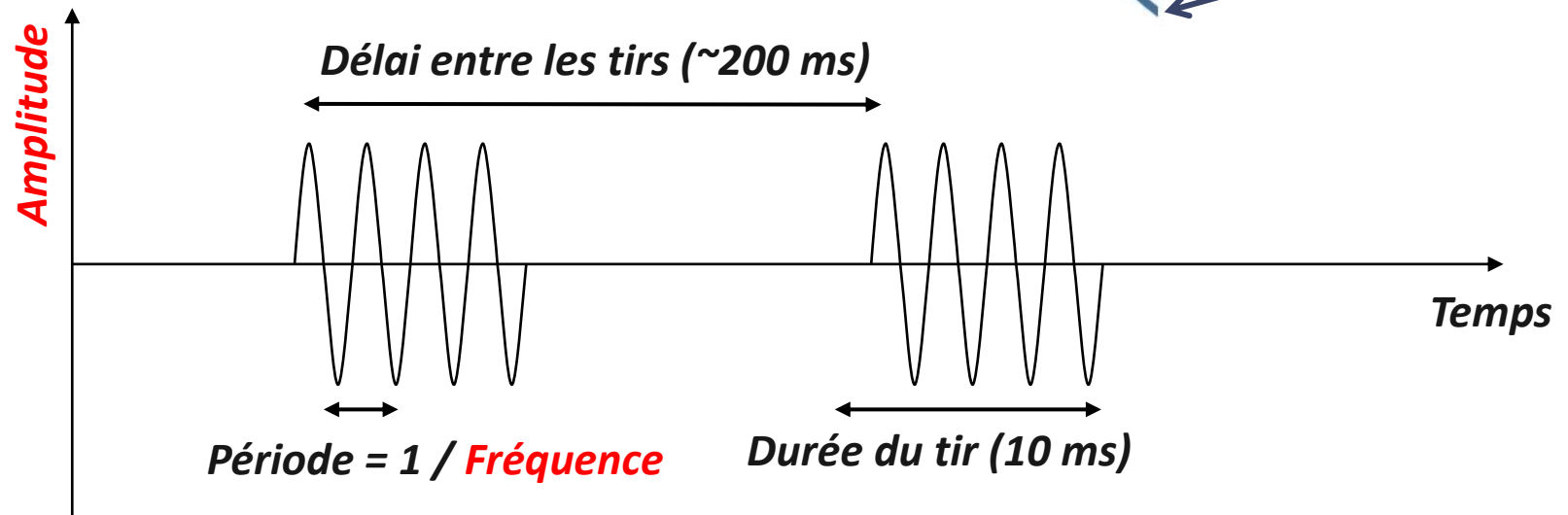
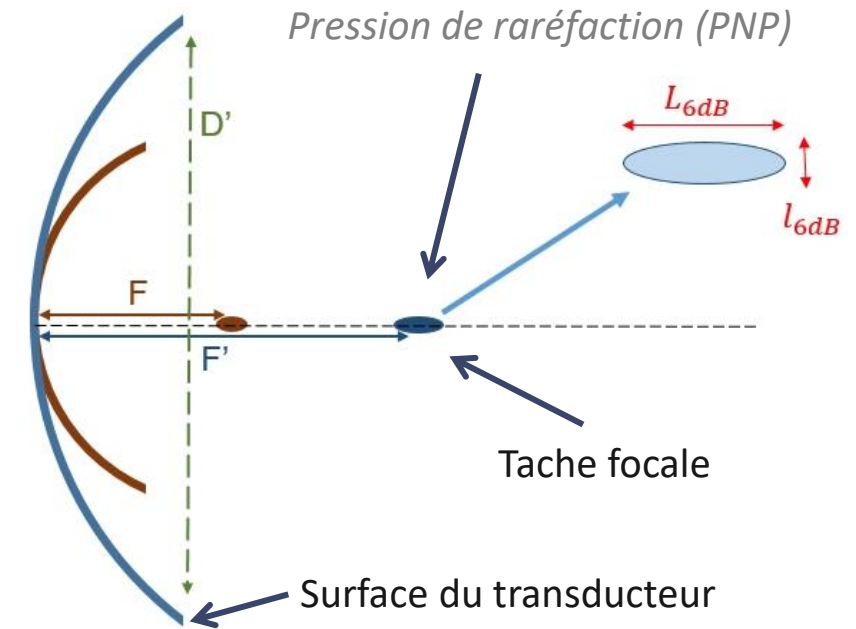
Les ultrasons sont non invasifs et localisés



❑ Transducteur à émetteur focalisé

- ❑ Surface piézoélectrique vibrante
- ❑ Fréquence d'émission caractéristique
- ❑ Surface concave pour une focalisation physique

❑ Onde mécanique



?? Le crâne atténue de façon hétérogène les ultrasons

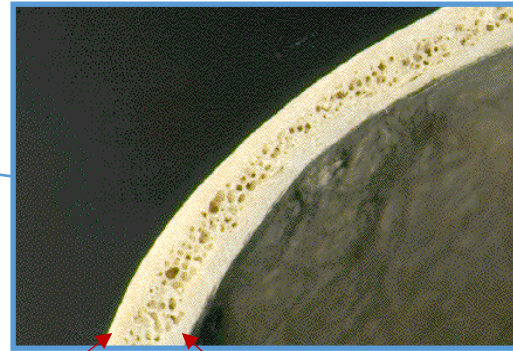
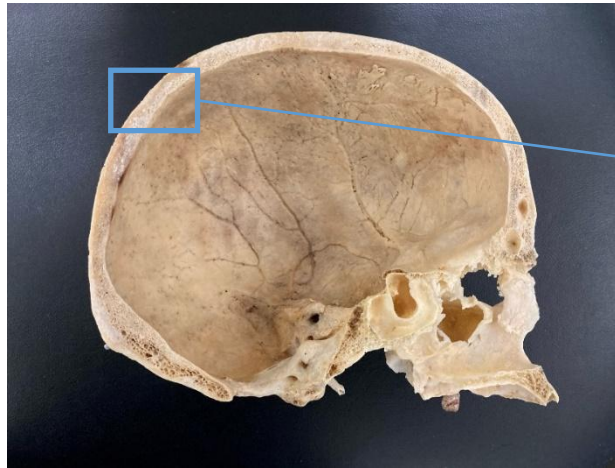
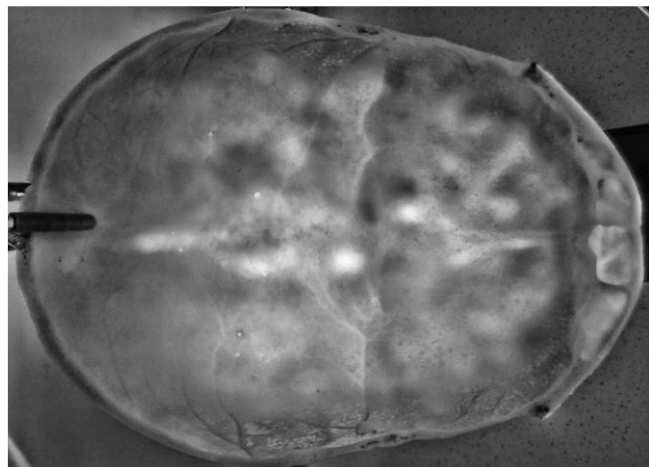


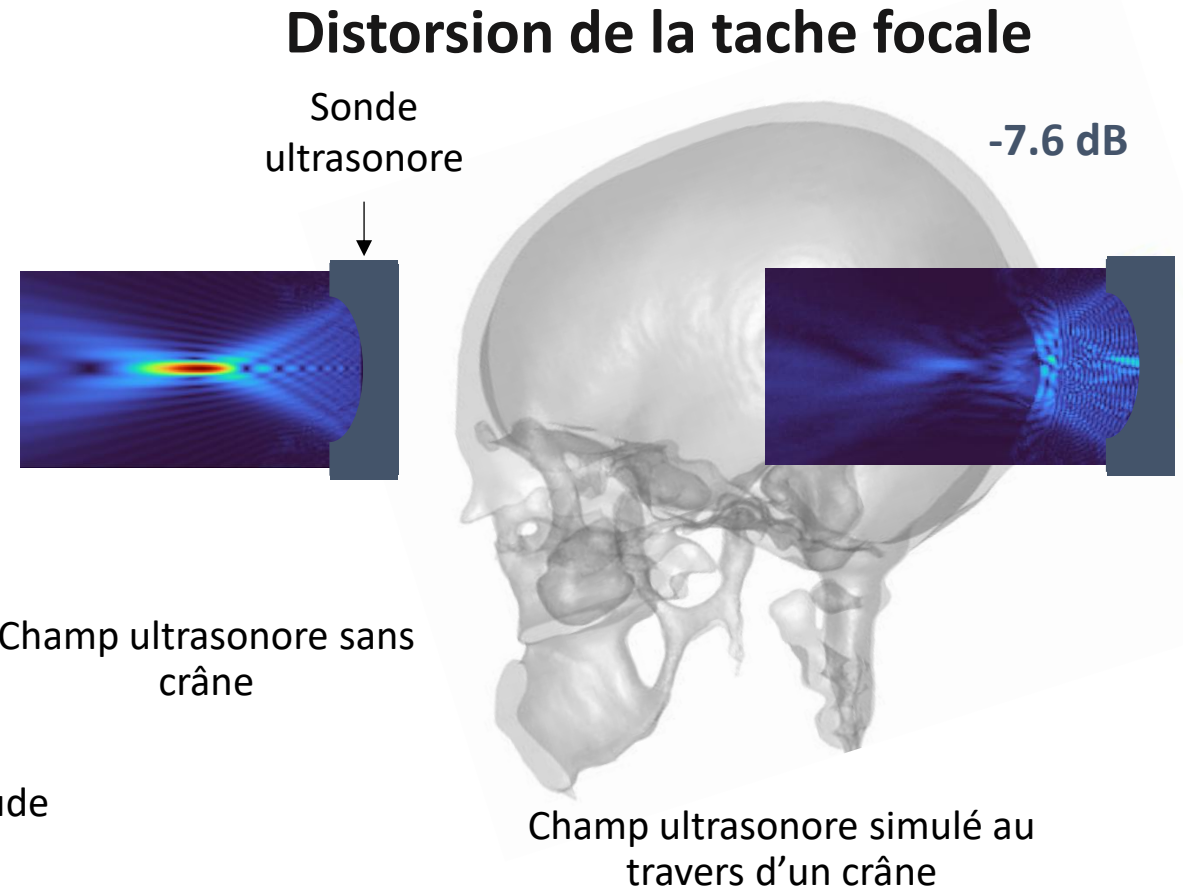
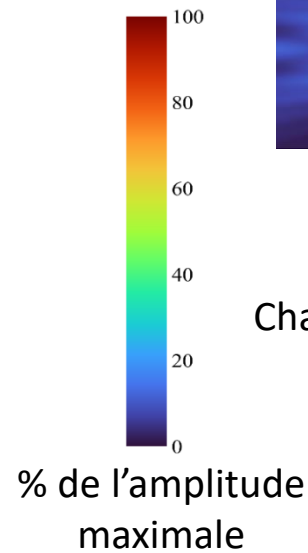
Table
externe

Diploë

Table
interne



Inhomogénéité de l'épaisseur du crâne par transparence optique [1]



[1] Pinton, G., et al. (2012), *Med. Phys.*, 39: 299–307

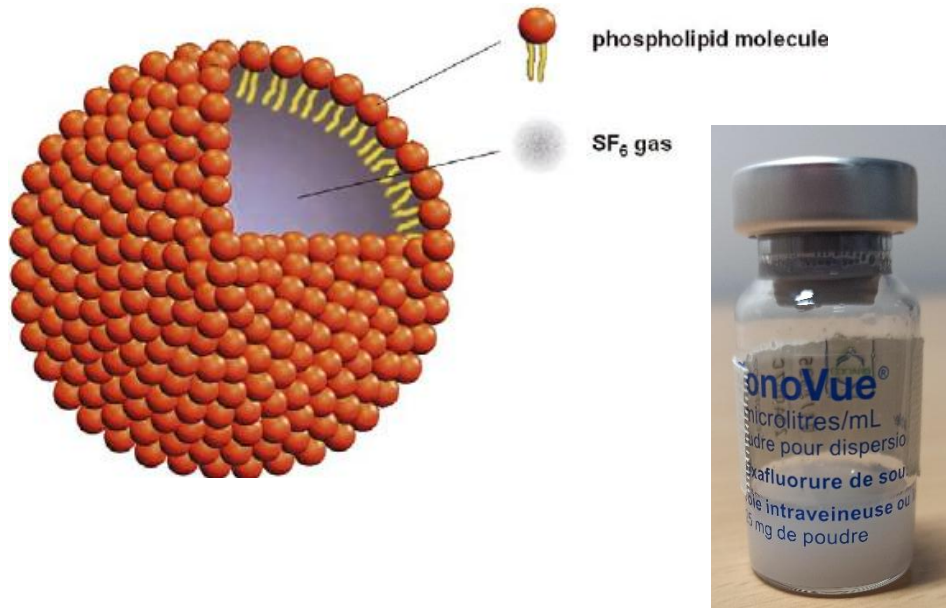
[2] D'après la thèse de doctorat de Célestine Angla



Il est nécessaire d'adapter la dosimétrie ultrasonore

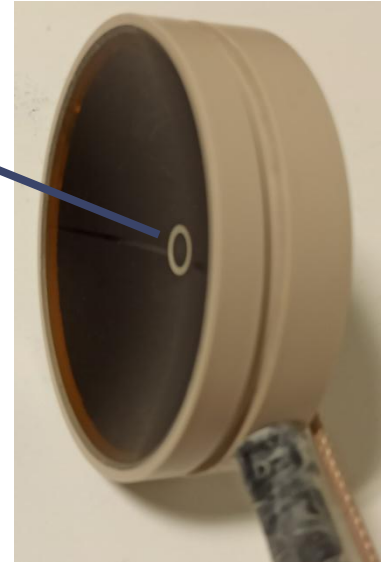
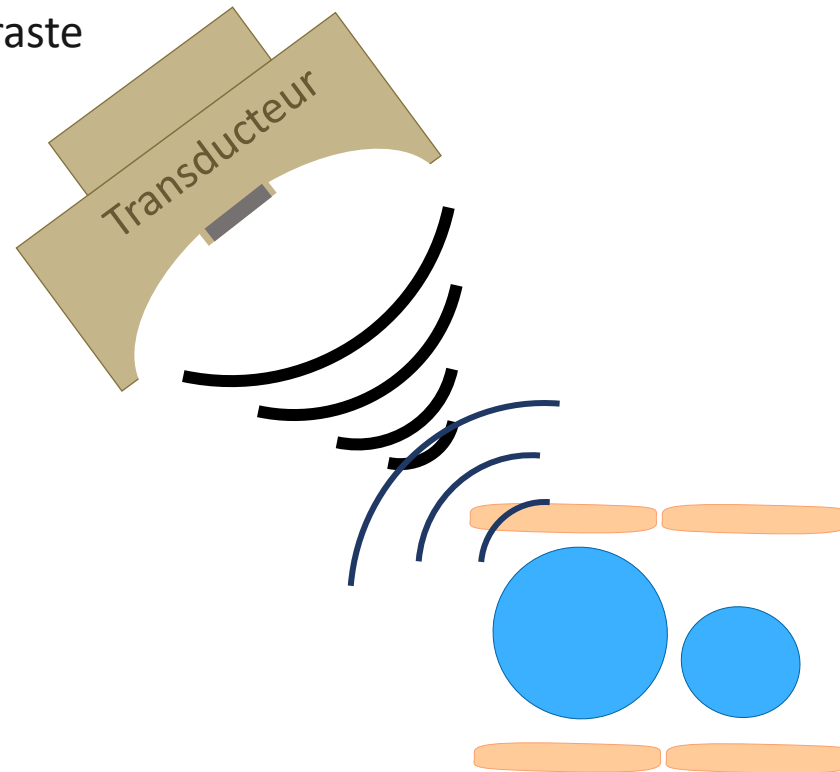
➤ Microbulles dans le sang

- Dissolution dans le sang
- Demi-vie d'environ 2 minutes
- Concentration variable durant l'expérience
- Déjà homologuées pour l'échographie de contraste



Bracco

❑ Détecteur passif de cavitation (PCD)





La cavitation peut provoquer des dommages

Cavitation stable

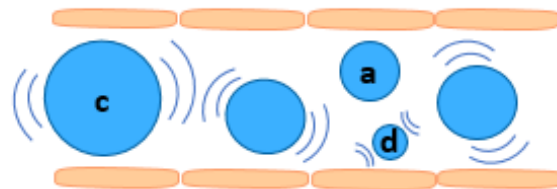
Cavitation non stable

Ouverture de BHE

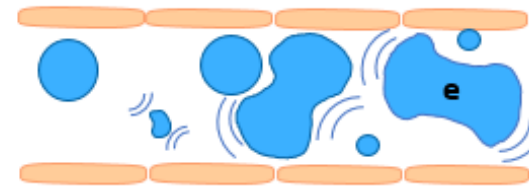
Pression acoustique



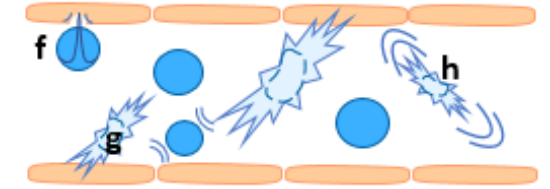
Sans microbulles



Cavitation stable



Déstabilisation



Cavitation inertielle

Apparition de dommages
vasculaires

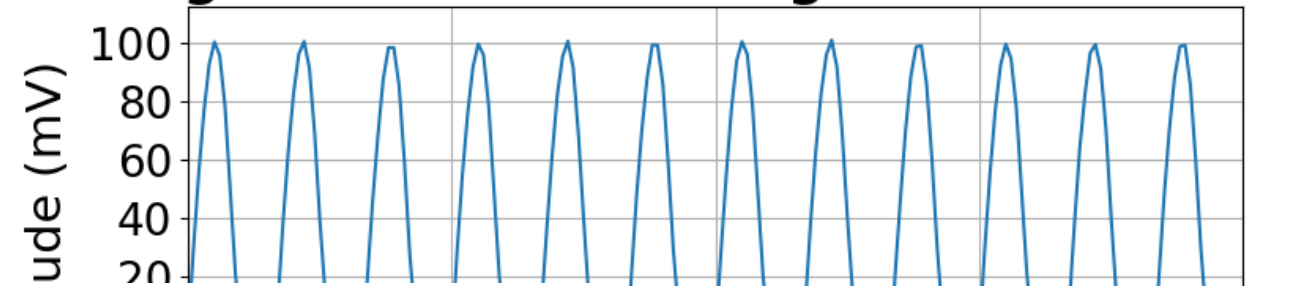


Différents indices peuvent être calculés à partir du signal rétro-diffusé

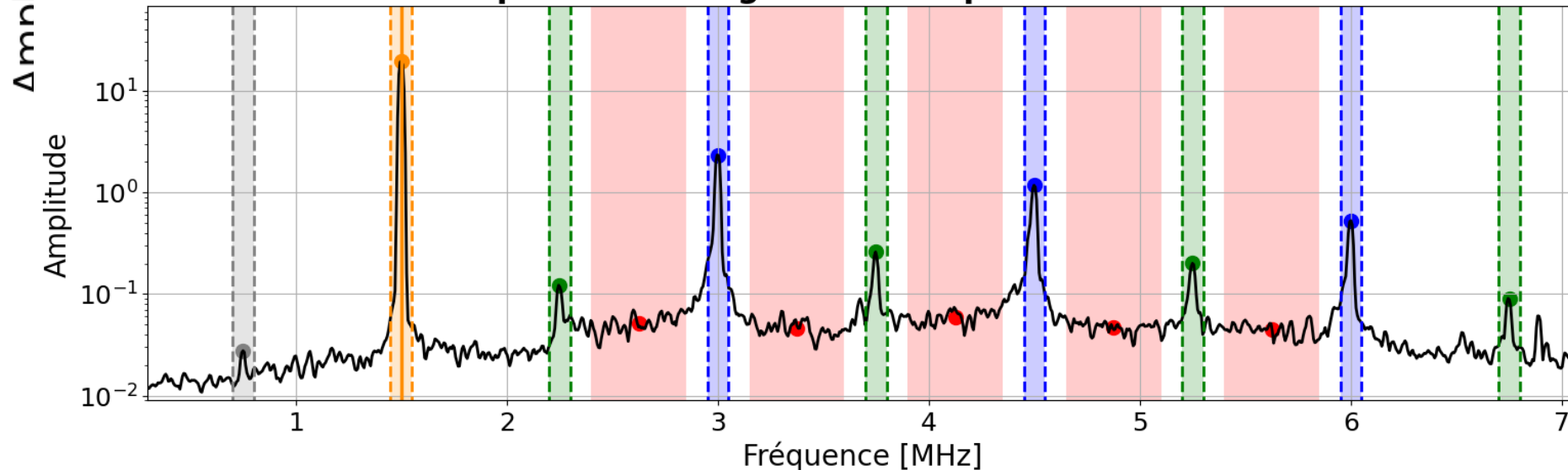
Signal rétrodiffusé par les microbulles



Agrandissement du signal rétrodiffusé



Spectre d'un signal acoustique rétro-diffusé



- Valeurs des indices
- ~ FFT
- Fondamental
- Bruit large bande
- Harmoniques
- Ultra-harmoniques
- Sous-harmonique

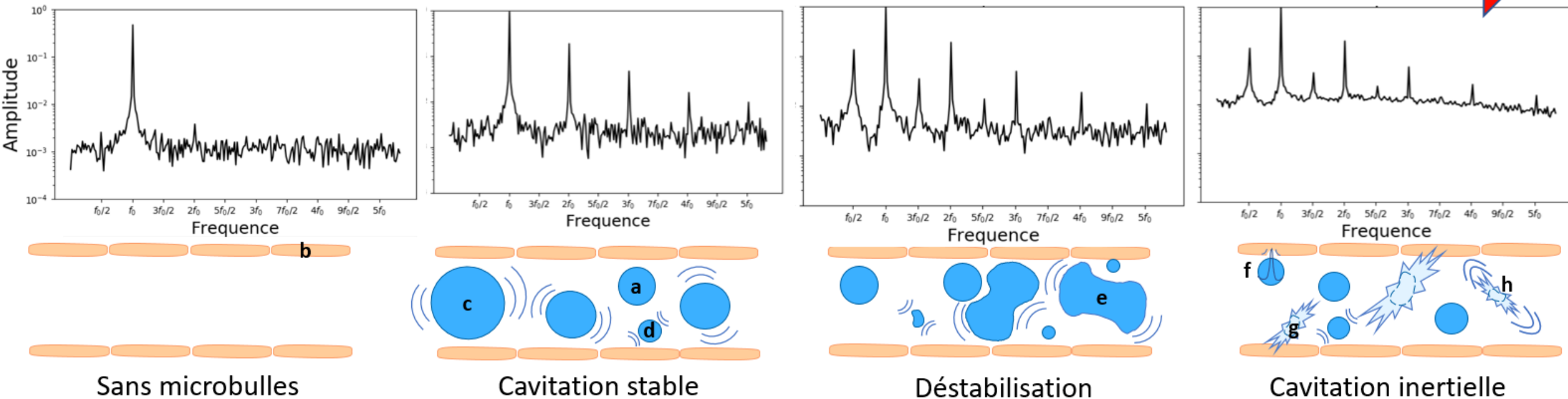


Les indices calculés nous renseignent sur le type de cavitation

Cavitation stable

Cavitation non stable

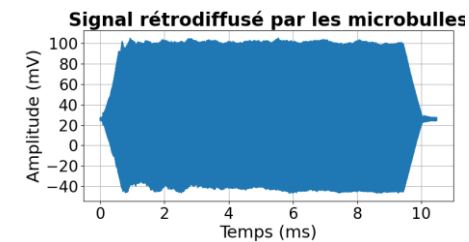
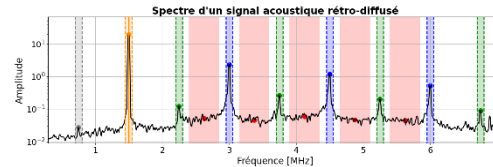
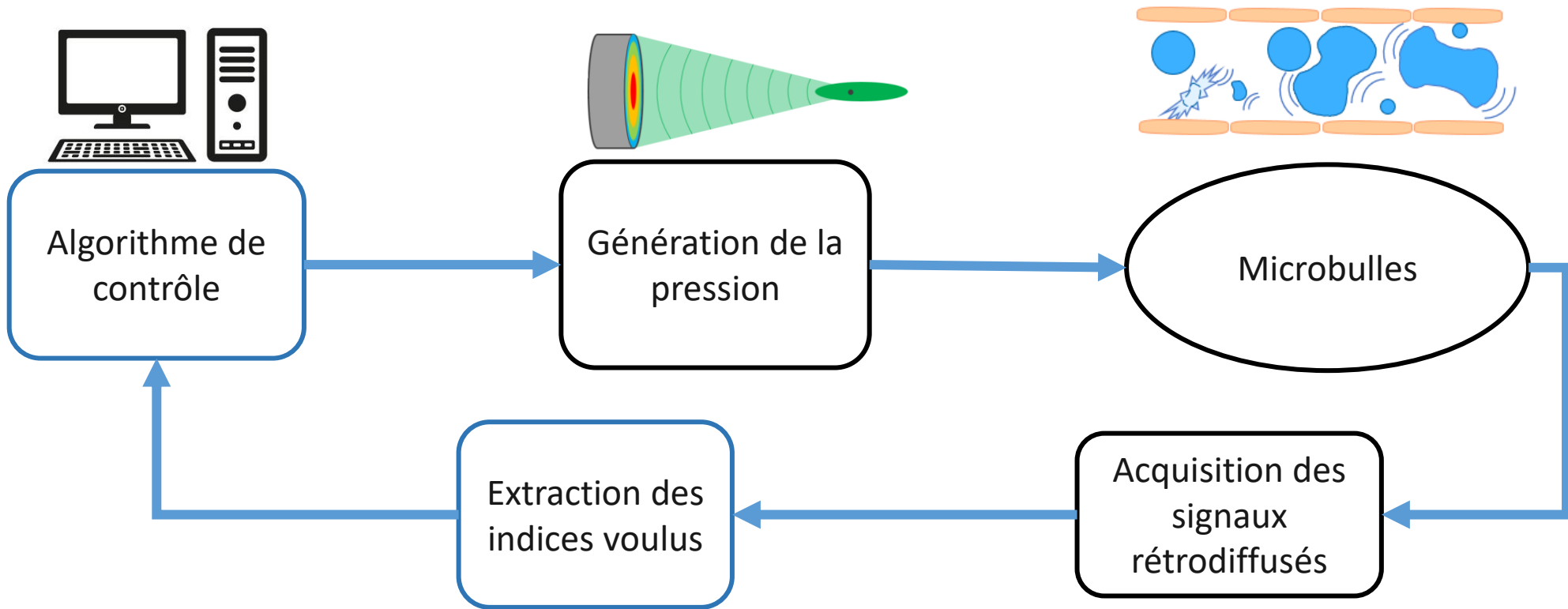
Pression acoustique





Des algorithmes pour adapter la pression à la cavitation

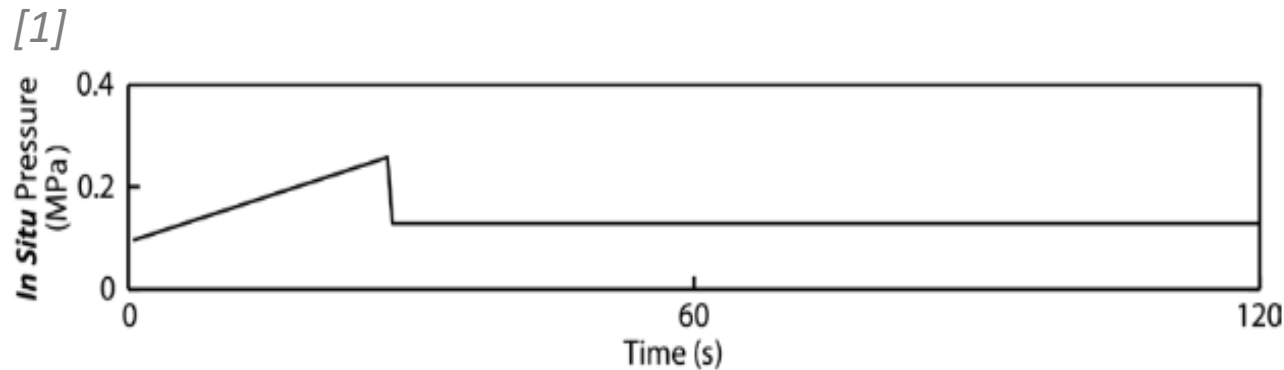
Fonctionnement général des algorithmes de l'état de l'art





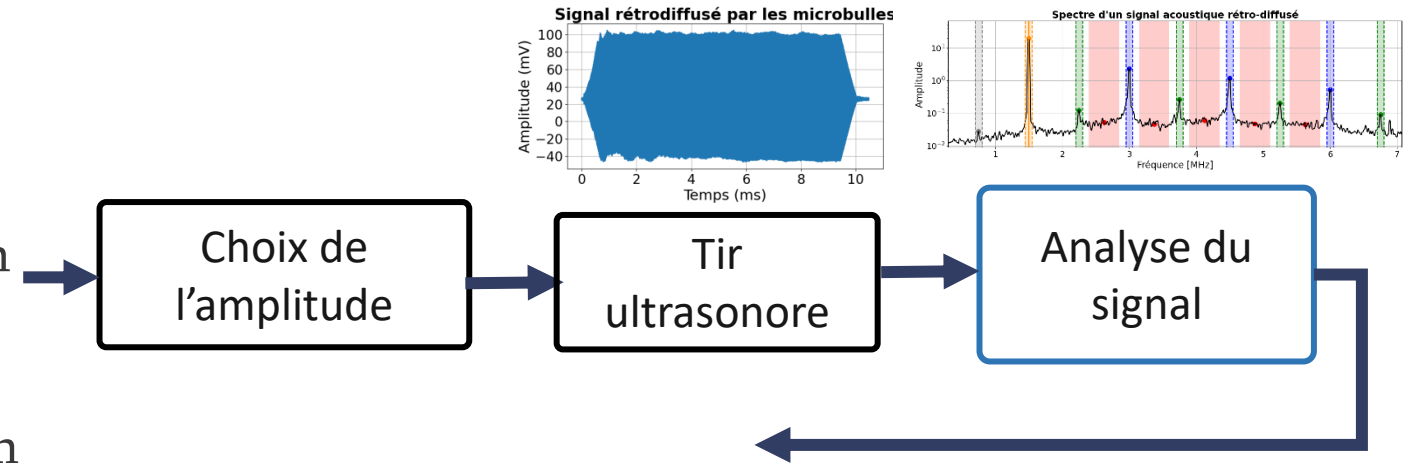
Ces contrôles (rétroactions) agissent uniquement entre les tirs ultrasonores

- Rétroaction sur la pression pour éviter la cavitation inertielle
- Analyse des signaux et choix de la pression entre chaque tir
- Algorithmes composés d'une augmentation de l'amplitude et une phase de réduction ou maintien

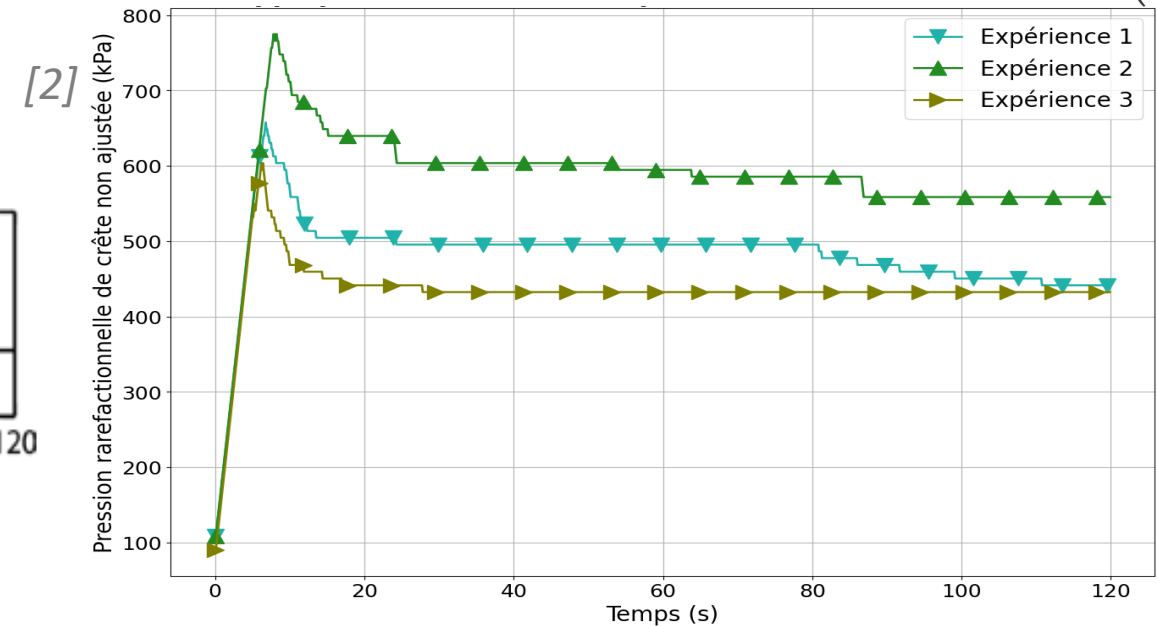


[1] O'Reilly M., *et al.*, Radiology, 2012

[2] Mondou P., *et al.*, in prep



Pressions lors d'ouvertures chez le Primate Non Humain (PNH)





Objectifs : Sécurité et efficacité de la thérapie

- ❑ Utilisation majoritaire de la composante inertielle : les ultra-harmoniques sont plus complexes à détecter
 - Nécessité d'un marqueur précoce sensible
 - Optimisation et choix de marqueurs

- ❑ Éviter la création de dommages vasculaires :
 - Mise en place d'un contrôle ultra-rapide

- ❑ Anticiper la translation clinique
 - Vérification de la capacité de détection de la cavitation au travers d'un crâne humain



Des indices de cavitation pertinents



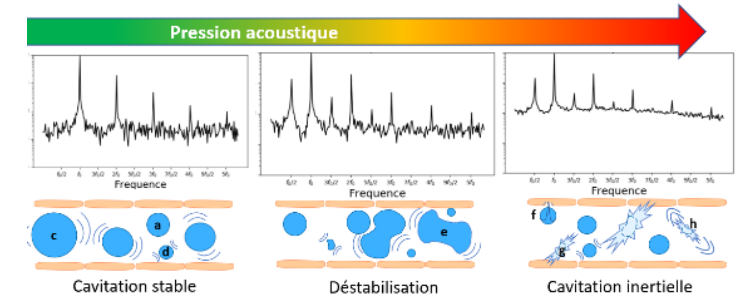
Un contrôle de la cavitation ultra-rapide



Vers un transfert clinique

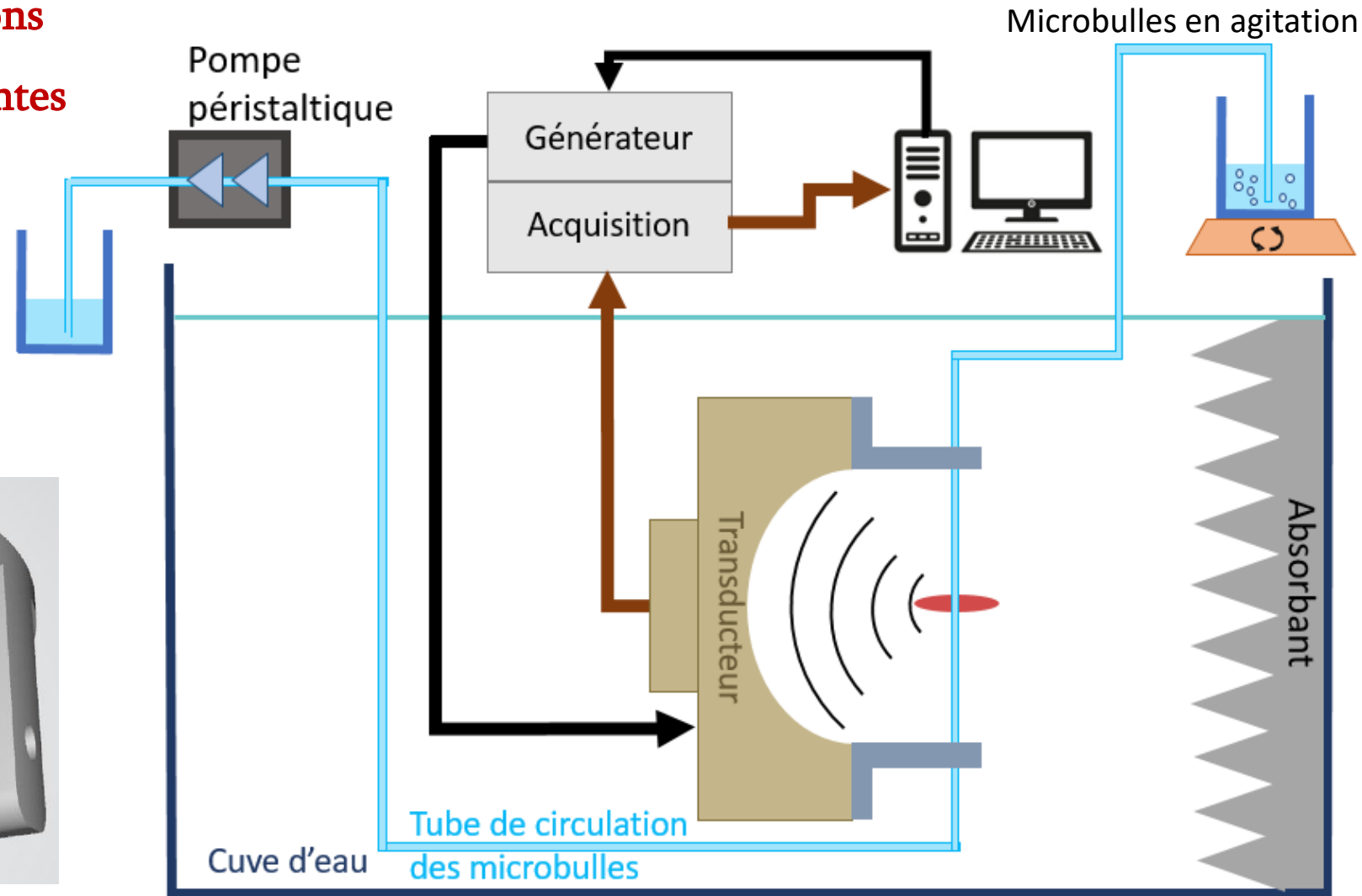
Nécessité d'expériences multiples *in vitro*

- Compréhension des dynamiques de la cavitation
- Obtention de résultats reproductibles pour quantifier la sensibilité et la spécificité des indices
- Constitution d'une base de données conséquente avec de nombreux paramètres variables



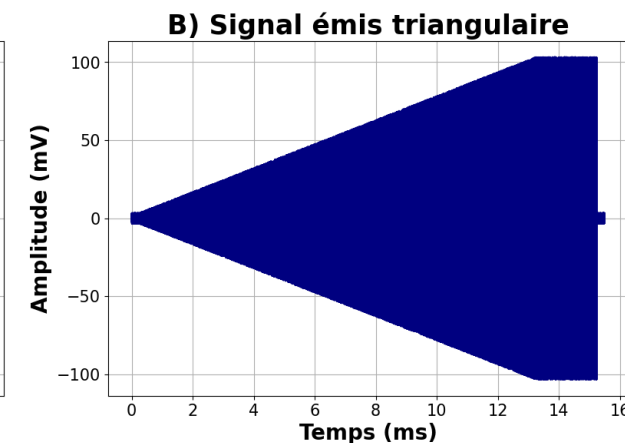
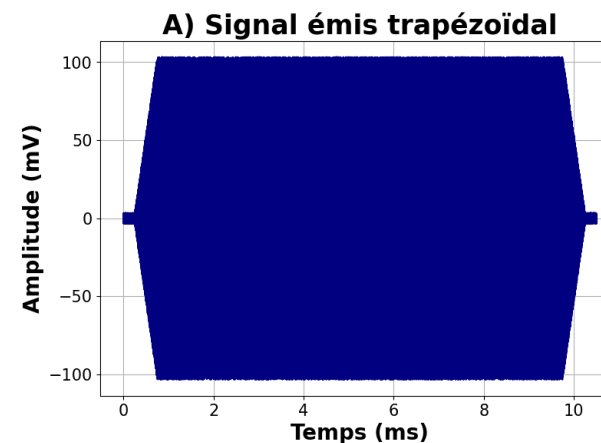
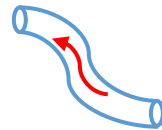
Un dispositif permettant d'observer la cavitation

- Tirs ultrasonores à **différentes pressions**
- Observation des différentes **composantes fréquentielles**
- Calcul des **indices de cavitation**



Choix des paramètres proches de ceux précliniques

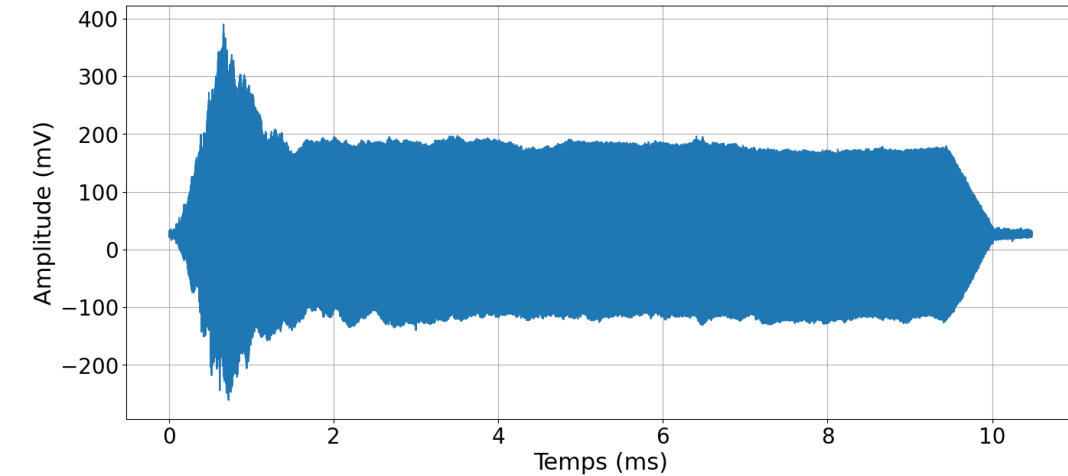
- Expériences *in vitro*, mais au plus proche des conditions *in vivo*
 - Transducteur : 1,5 MHz
 - Rongeurs 1,5 MHz
 - PNH 0,5 MHz
 - Dilution des microbulles (SonoVue®) : 1:27/ 1:80/ 1:240
 - Souris 1:36
 - Rats 1:140
 - PNH 1:216
 - Plage de pression (PNP) : jusqu'à 1,1 MPa
 - Ouvertures constatées dès 400 kPa [1]
 - Vitesse de circulation : 18 mm/s [2]



[1] Magnin R., et al., Journal of Therapeutic Ultrasound, 2015

[2] Chavignon A., Microscopie par localisation ultrasonore dans les modèles d'accidents vasculaires cérébraux. Thèse

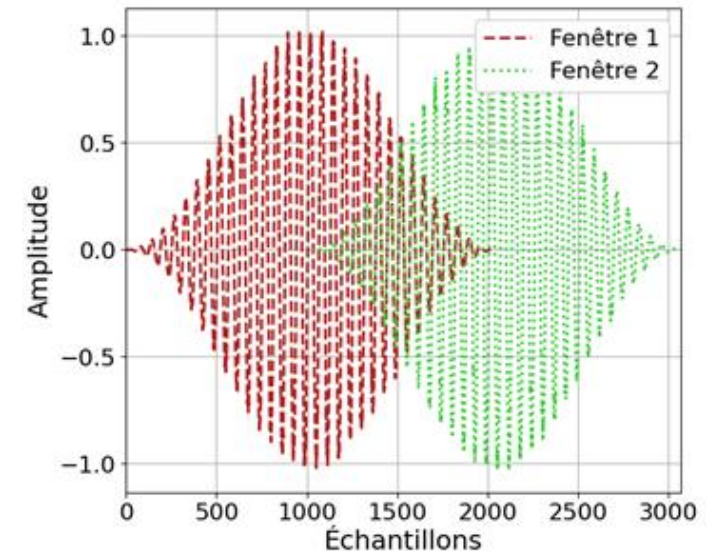
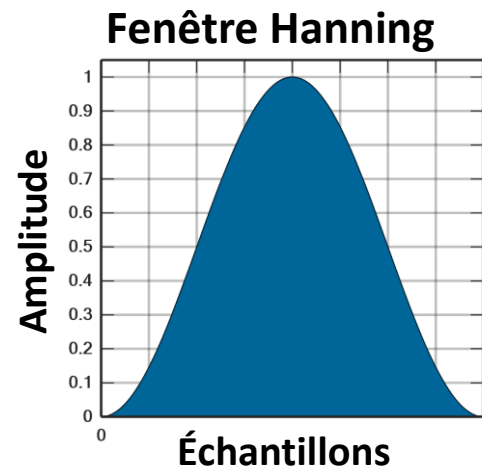
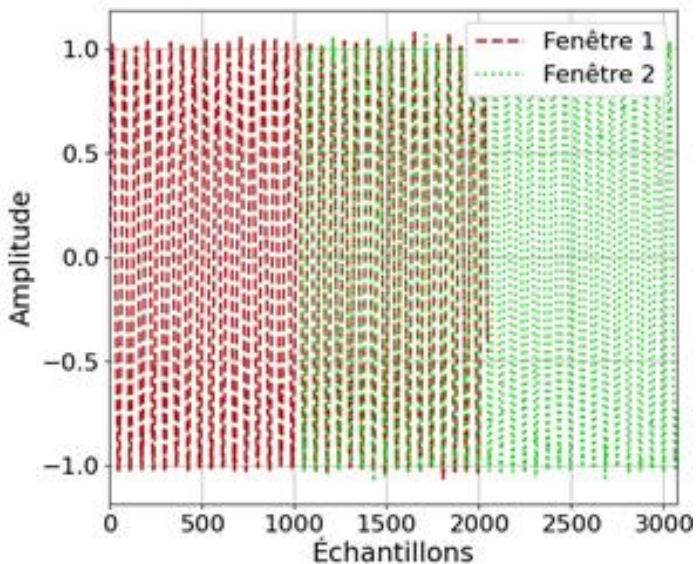
Le signal est fenêtré pour mieux connaître sa dynamique



- Durant chaque tir les indices varient fortement pendant les 10 ms

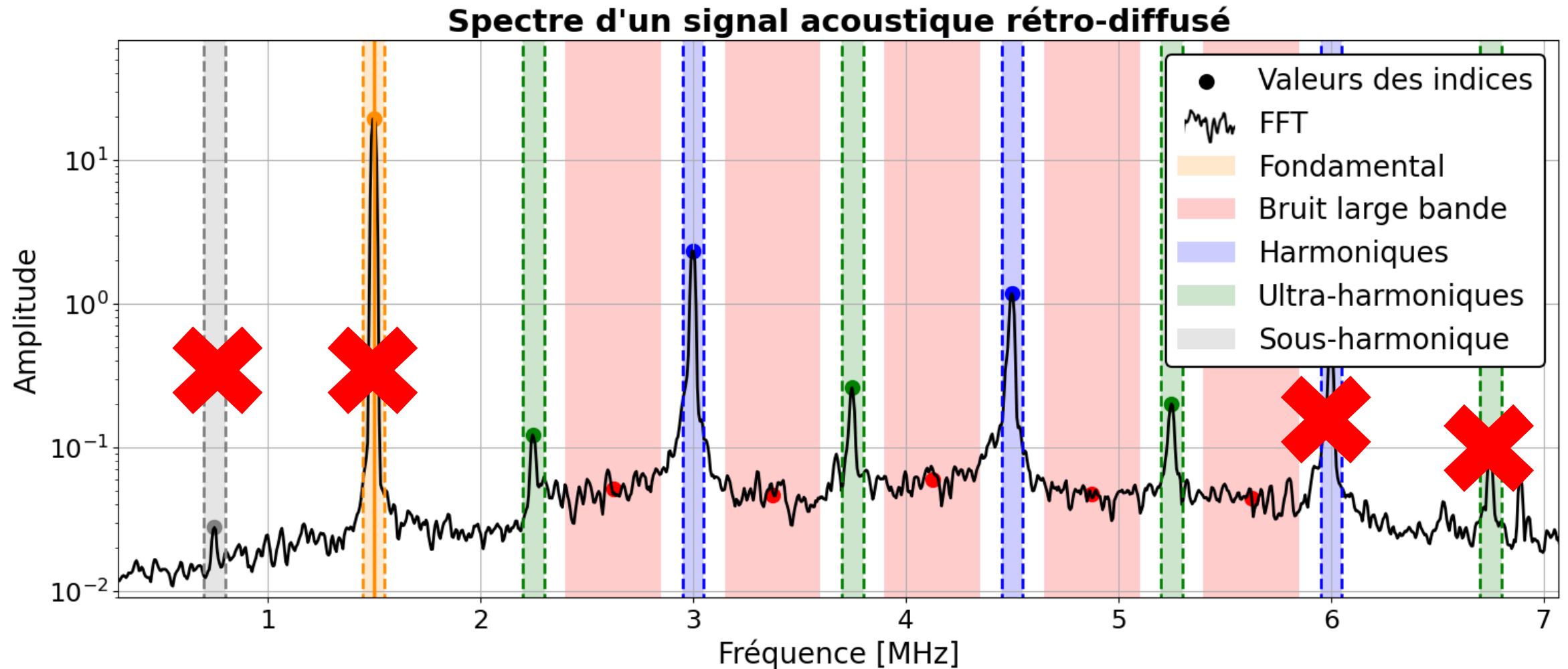
- Découpage du signal en fenêtres temporelles de 80 μ s (2048 points), décalées de 40 μ s

Signaux temporels fenêtrés des tirs avant et après une fenêtre Hanning



Les indices sont calculés à partir du spectre

- Transformée de Fourier d'une fenêtre du signal temporel

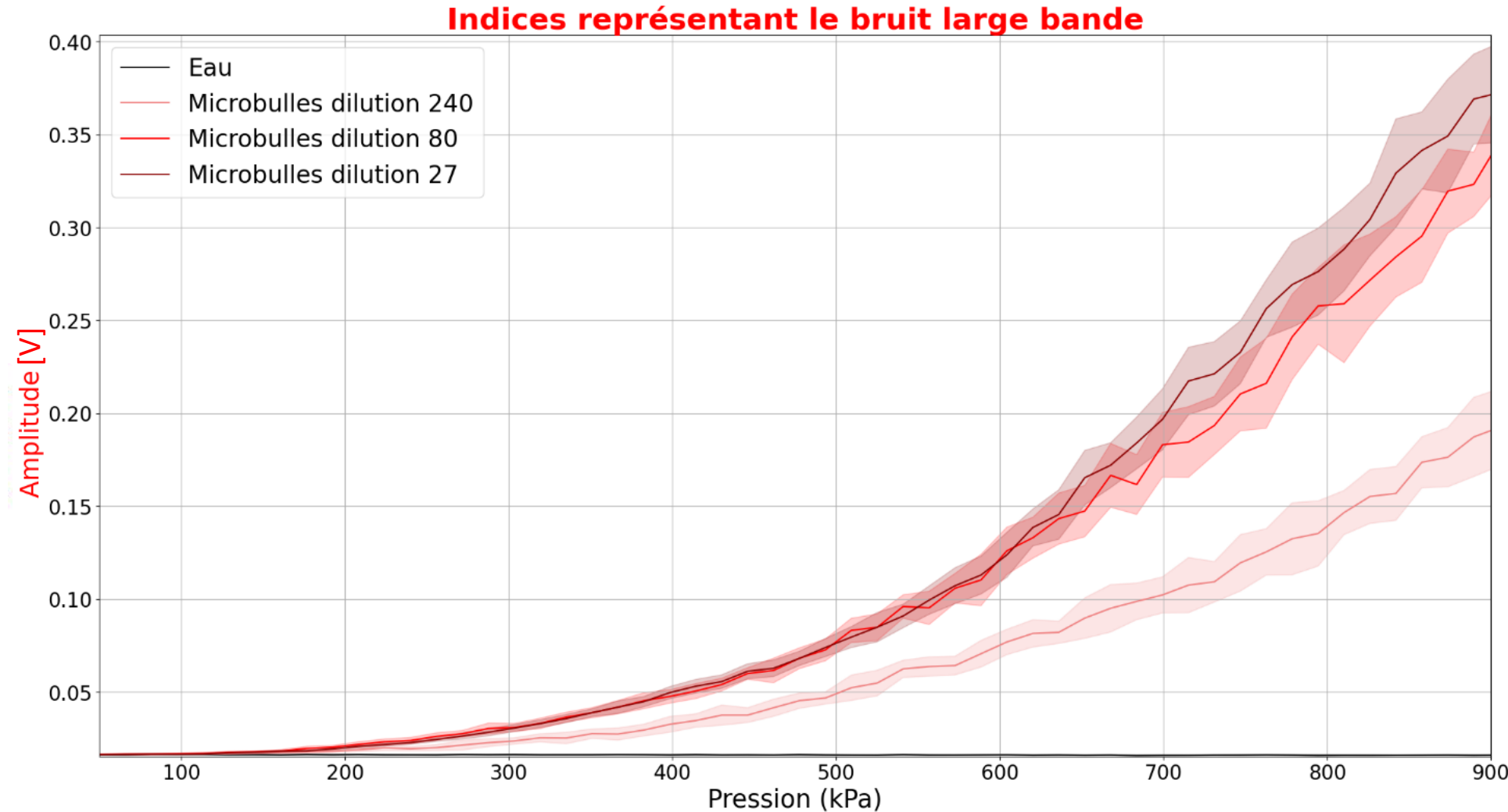


PCD centré à 4,5 MHz, bande passante 97 %

Les différents indices évoluent différemment avec la pression et la dilution

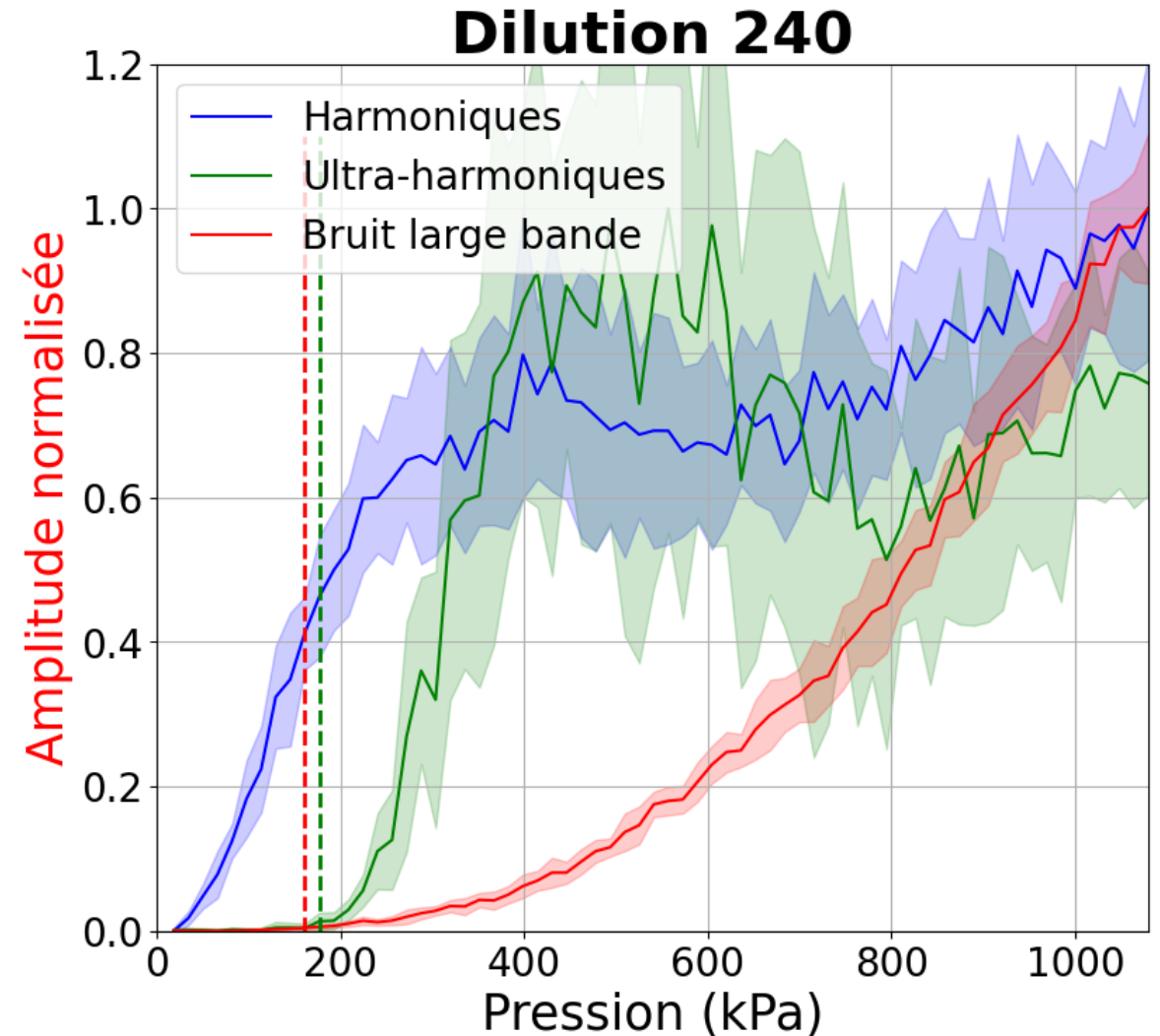
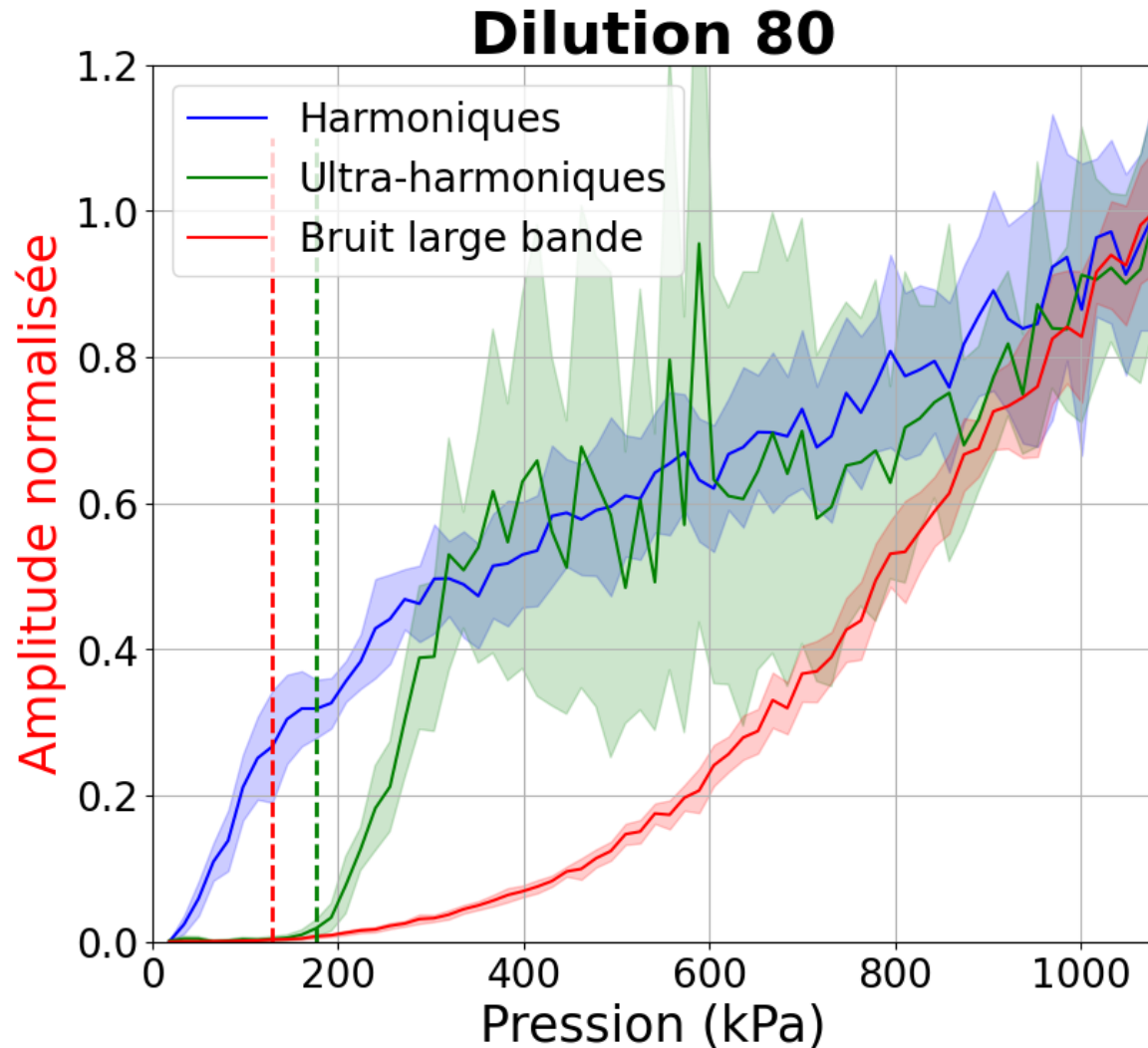


- Pression seuil pour les ultra-harmoniques
- Pression seuil du bruit large bande



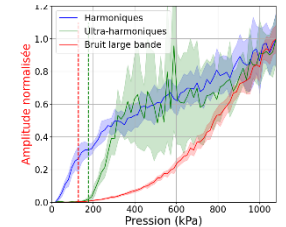
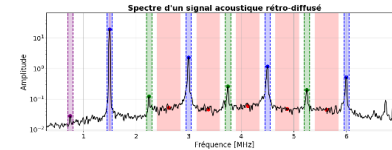
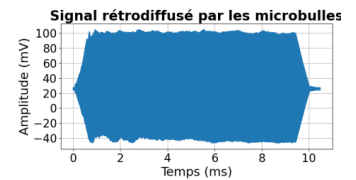
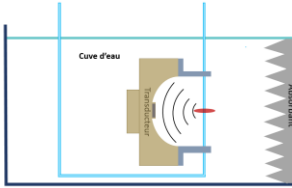
La cavitation non stable apparaît à partir d'une pression seuil

- Observation des évolutions relatives des différents indices de cavitation



La cavitation non stable est détectable mais il faut s'adapter à l'expérience

- Construction d'une expérience permettant de mesurer la cavitation *in vitro*
- Réalisation de nombreuses expériences avec différents paramètres
- Optimisation des méthodes de calculs et mesure
- Possibilité de différencier la cavitation stable de la cavitation inertielle
- Nécessité d'adapter les méthodes d'analyse à chaque modalité d'expérience différente





Des indices de cavitation pertinents



Un contrôle de la cavitation ultra-rapide



Vers un transfert clinique

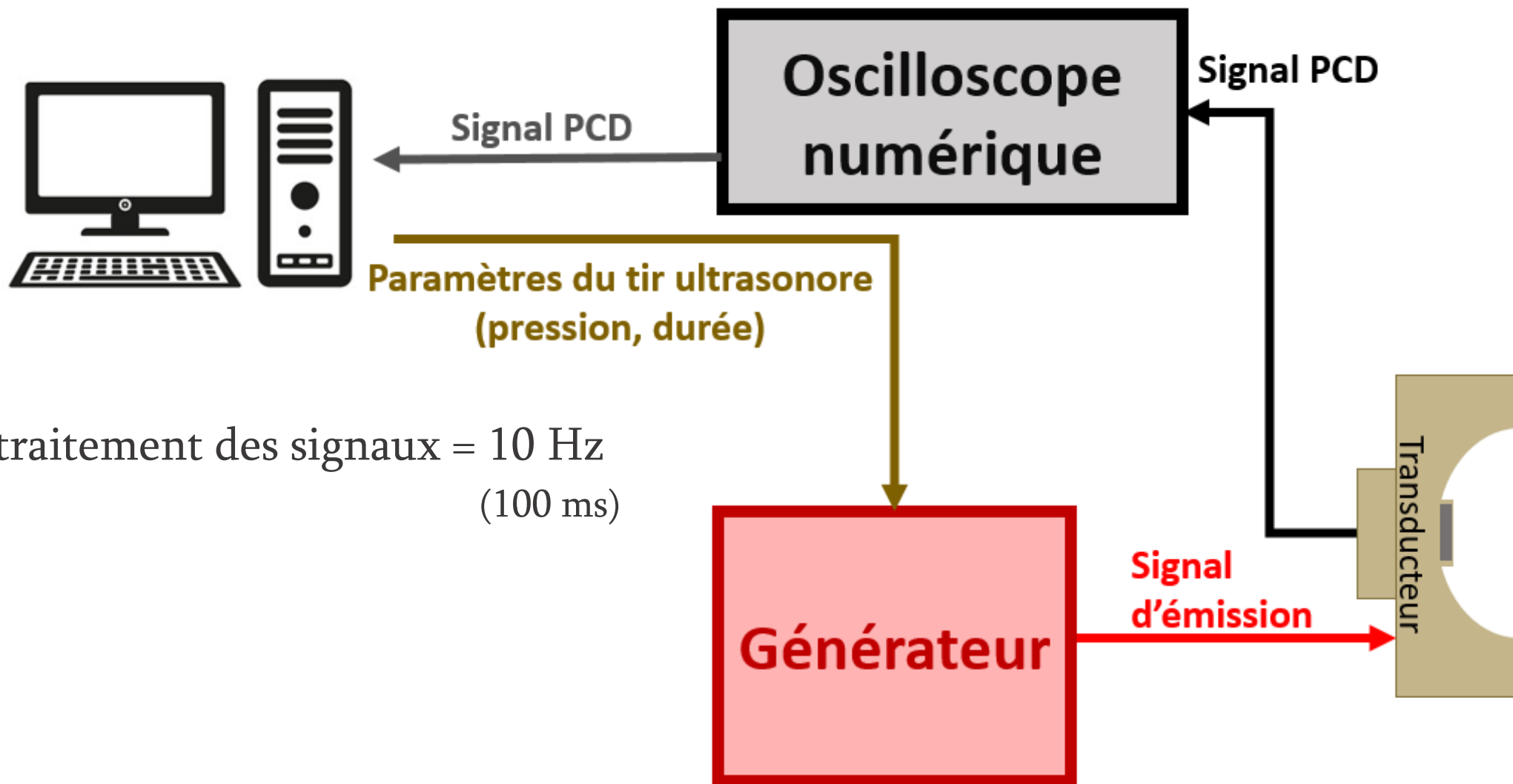


Construction d'un contrôle de cavitation ultra-rapide

- Amélioration de l'efficacité et de la sécurité des algorithmes de contrôle de cavitation
 - Accélération de la vitesse des algorithmes de rétroaction
 - Adapter la pression de façon plus spécifique aux microbulles
 - Validation de l'algorithme *in vivo* et *in vitro*



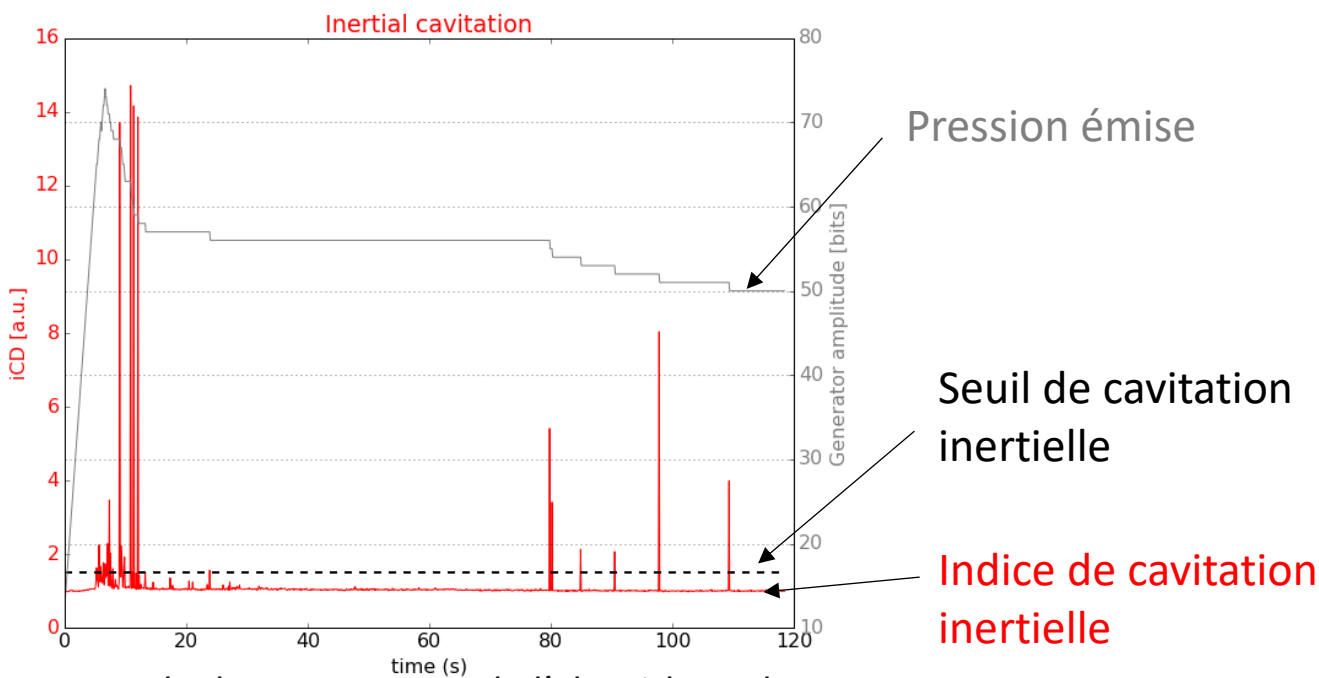
Lorsque l'ordinateur est à l'initiative de chaque tir



Fréquence de traitement des signaux = 10 Hz
(100 ms)



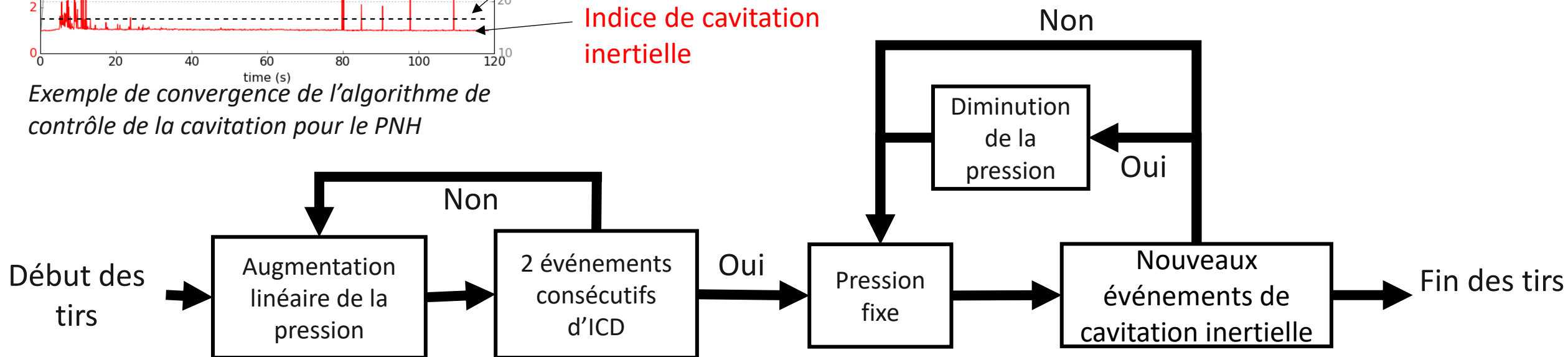
L'algorithme utilisé actuellement lors d'expériences *in vivo*



Exemple de convergence de l'algorithme de contrôle de la cavitation pour le PNH

Fonctionnement tir à tir: Kamimura et al, 2019

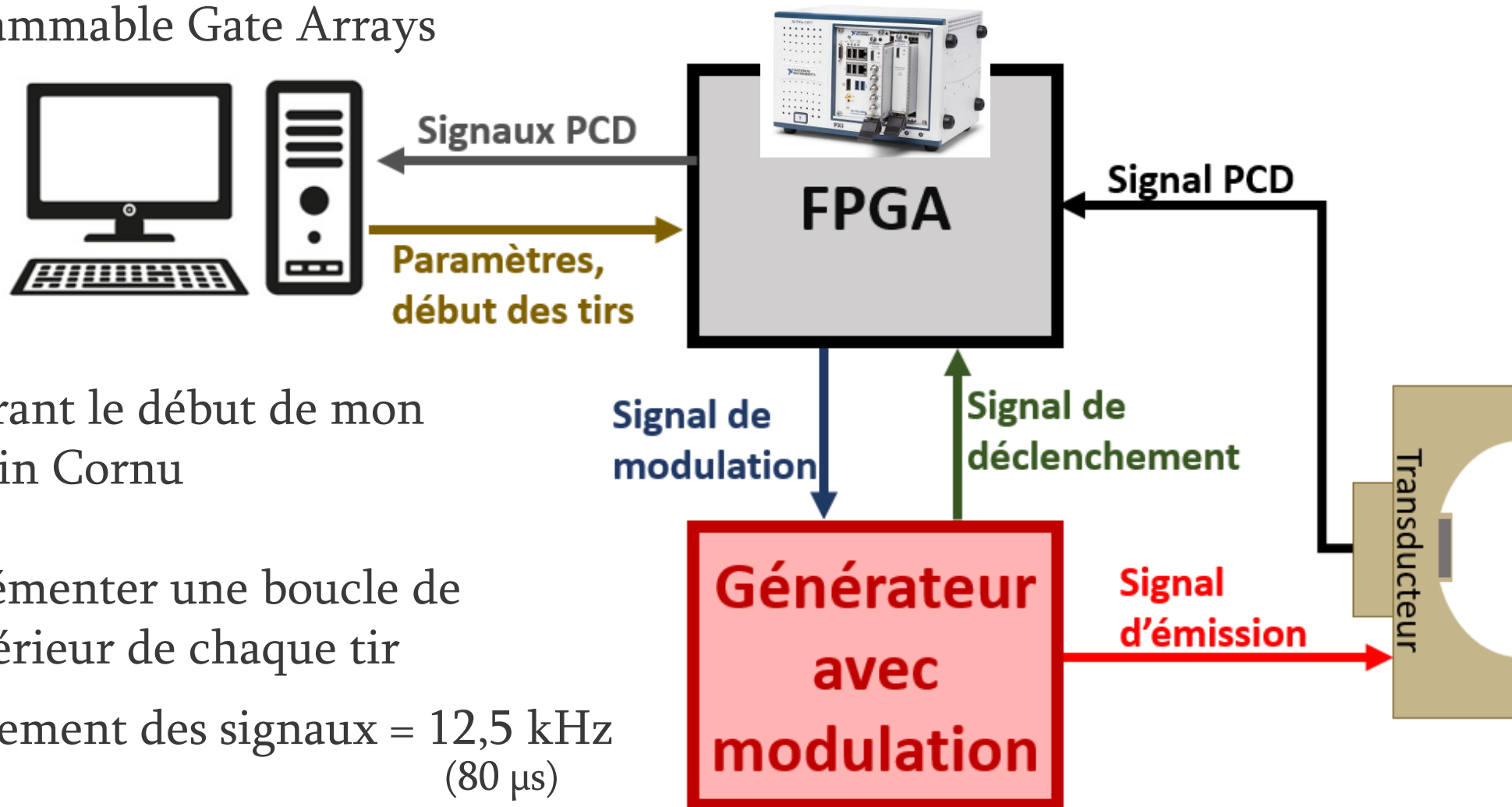
- Seuil de cavitation inertielle
- Variation avec un pas fixe
- Vitesse d'analyse lente (200 ms)





Le FPGA permet une rétroaction ultra-rapide

FPGA : Field Programmable Gate Arrays



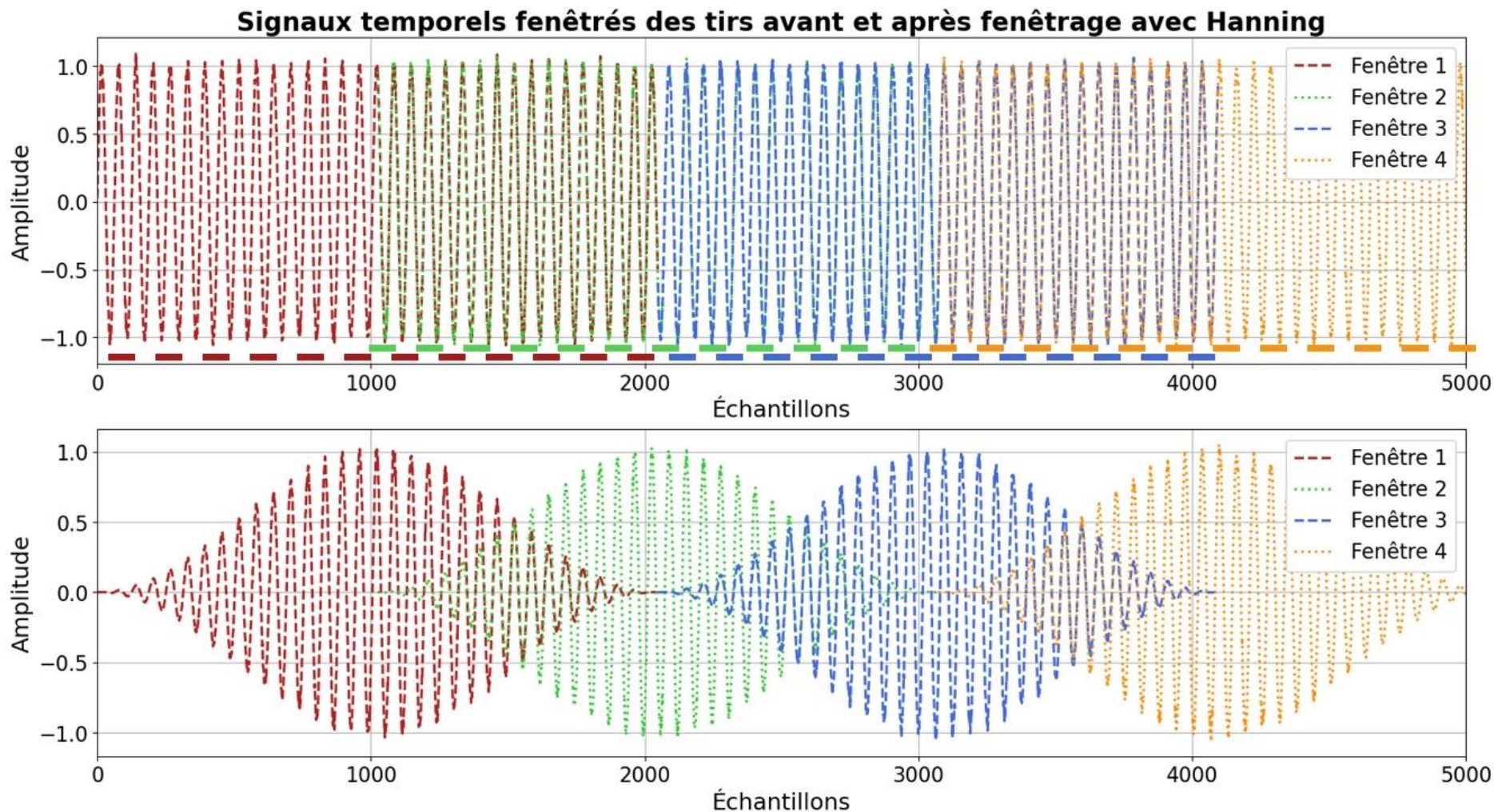
Implémentation durant le début de mon doctorat par Corentin Cornu

- Possibilité d'implémenter une boucle de rétroaction à l'intérieur de chaque tir
- Fréquence de traitement des signaux = 12,5 kHz (80 μ s)



Traitement du signal permettant une action à chaque fenêtre temporelle

- Fenêtrage effectué par le FPGA



Fenêtre de $80\ \mu\text{s}$
Chevauchement de $30\ \mu\text{s}$

Choix de l'amplitude
toutes les $80\ \mu\text{s}$ ($12,5\ \text{kHz}$)

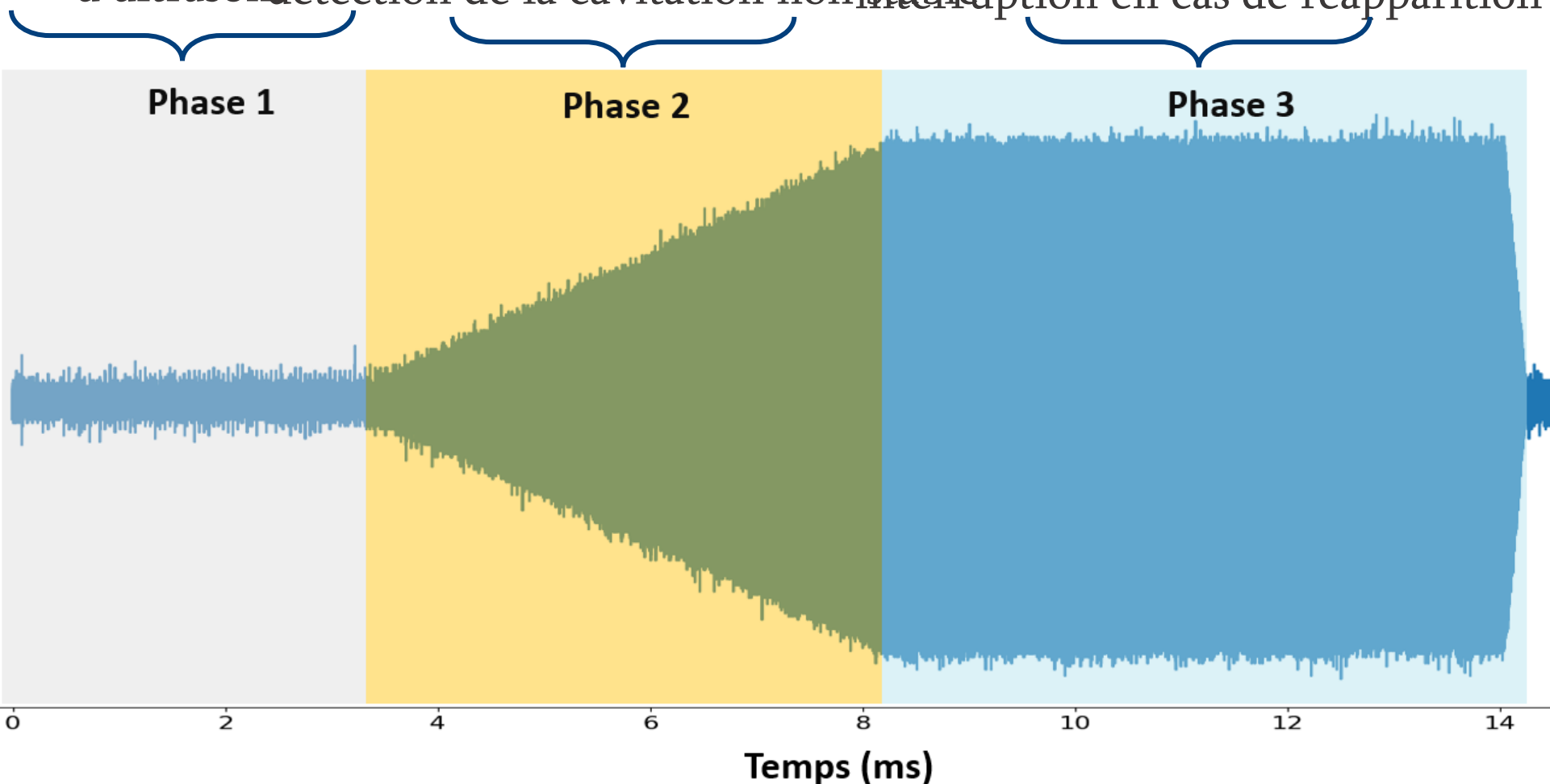
Échantillonnage : $25\ \text{MHz}$



Une stratégie d'adaptation de la pression à chaque tir

➤ Format de l'enveloppe et logique du contrôle :

Calcul du bruit d'émission progressive de la pression à cette valeur avec d'ultrason



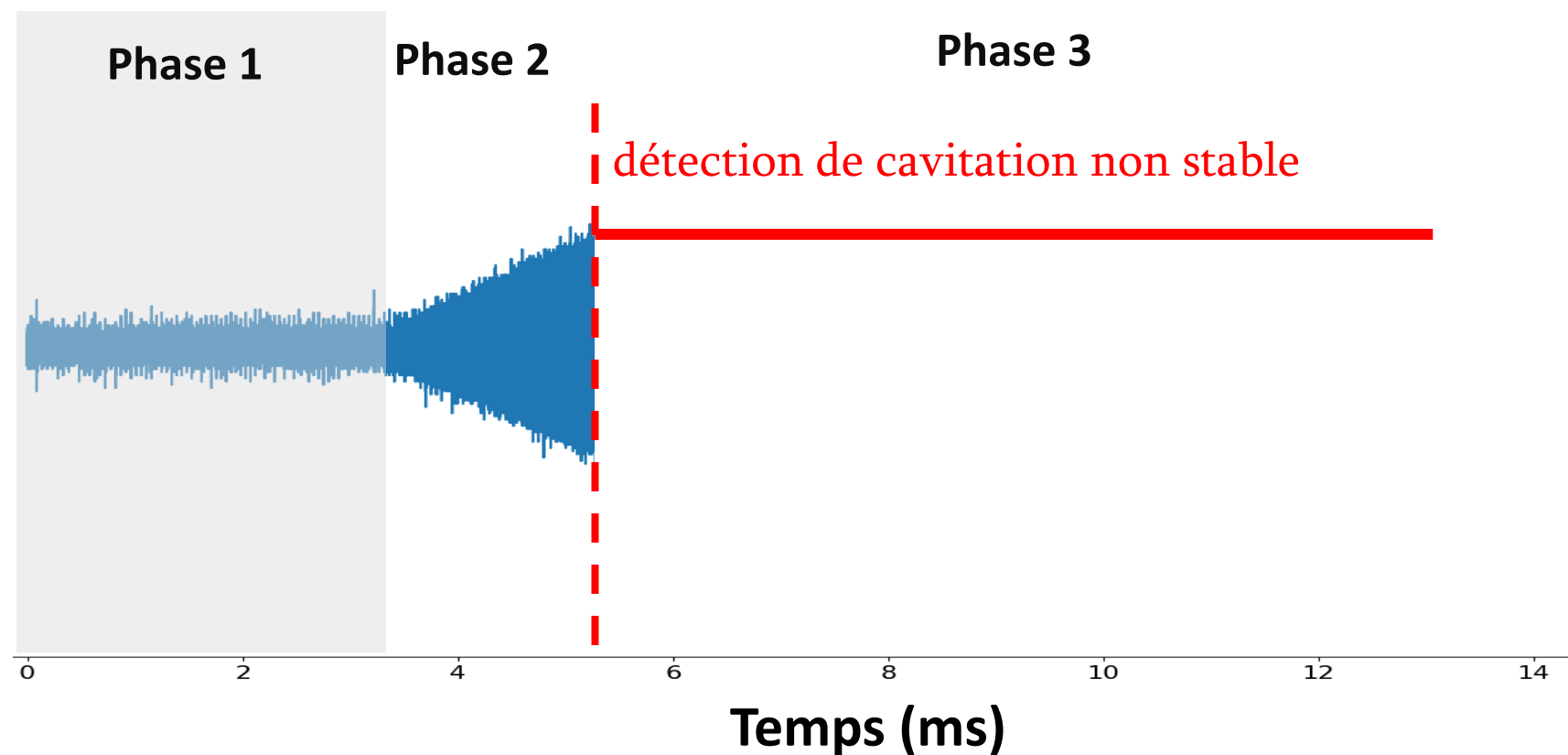


Une stratégie d'adaptation de la pression à chaque tir

➤ Format de l'enveloppe et logique du contrôle :

➤ Stratégie de contrôle :

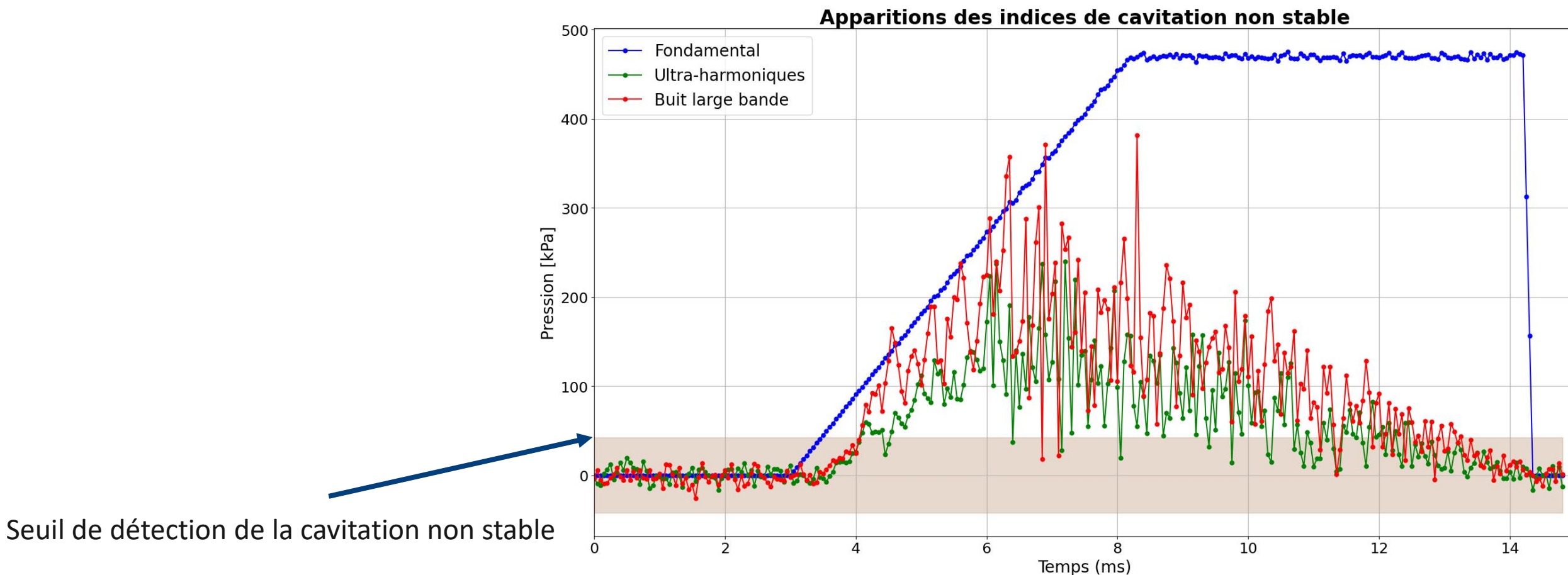
- Augmentation de la pression jusqu'à la détection de cavitation non stable
- Maintien de la pression pour la plus haute valeur n'ayant pas déclenché de cavitation non stable
- Arrêt du tir en cas de réapparition prolongée de la cavitation non stable





L'absence de contrôle entraîne l'apparition de cavitation inertielle intense

- Aucune rétroaction n'est appliquée
- La cavitation inertielle apparaît fortement et reste présente

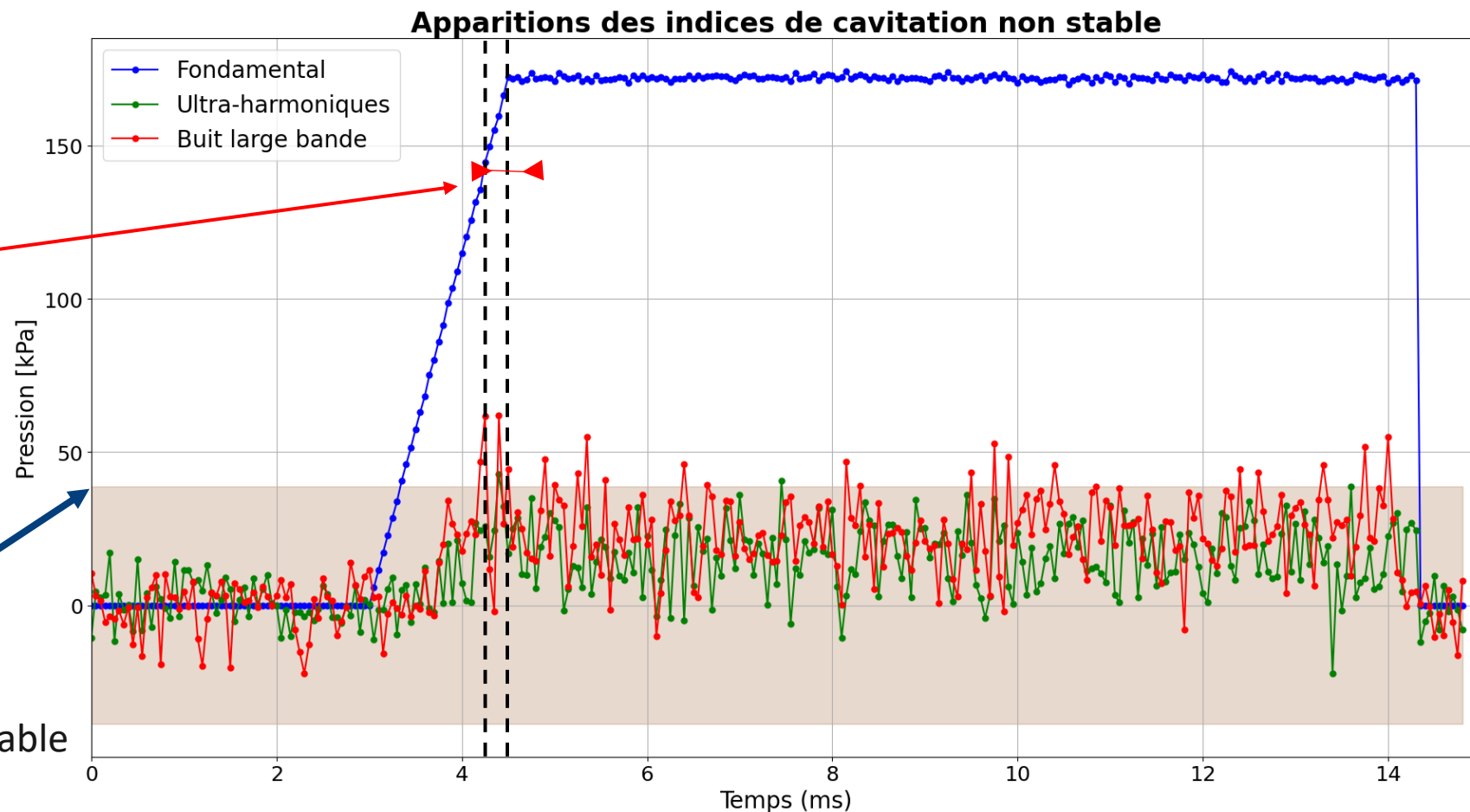




La pression est maintenue constante après dépassement des seuils

- La pression est maintenue constante après la détection de la cavitation non stable
- Un délai d'application existe ($200\ \mu\text{s}$) : pression trop importante maintenue

- 5 fenêtres de retard

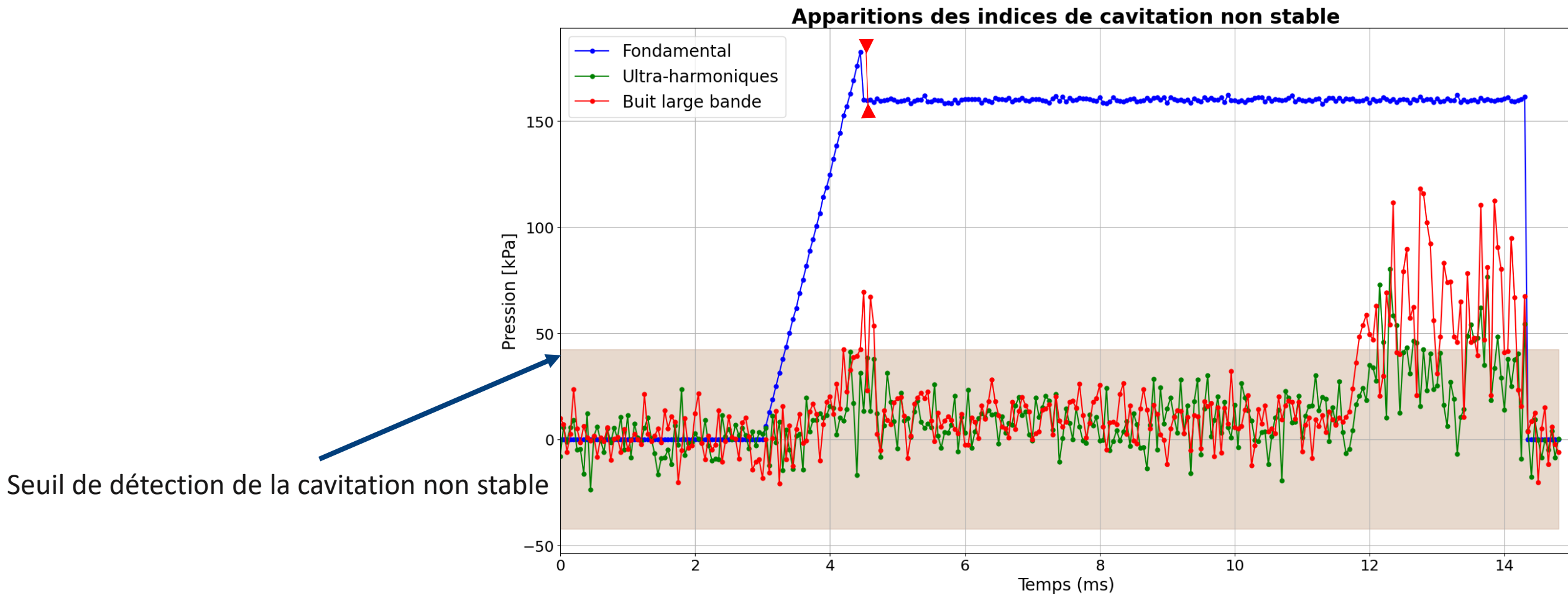


Seuil de détection de la cavitation non stable



Une réduction de la pression permet de compenser le délai de calcul

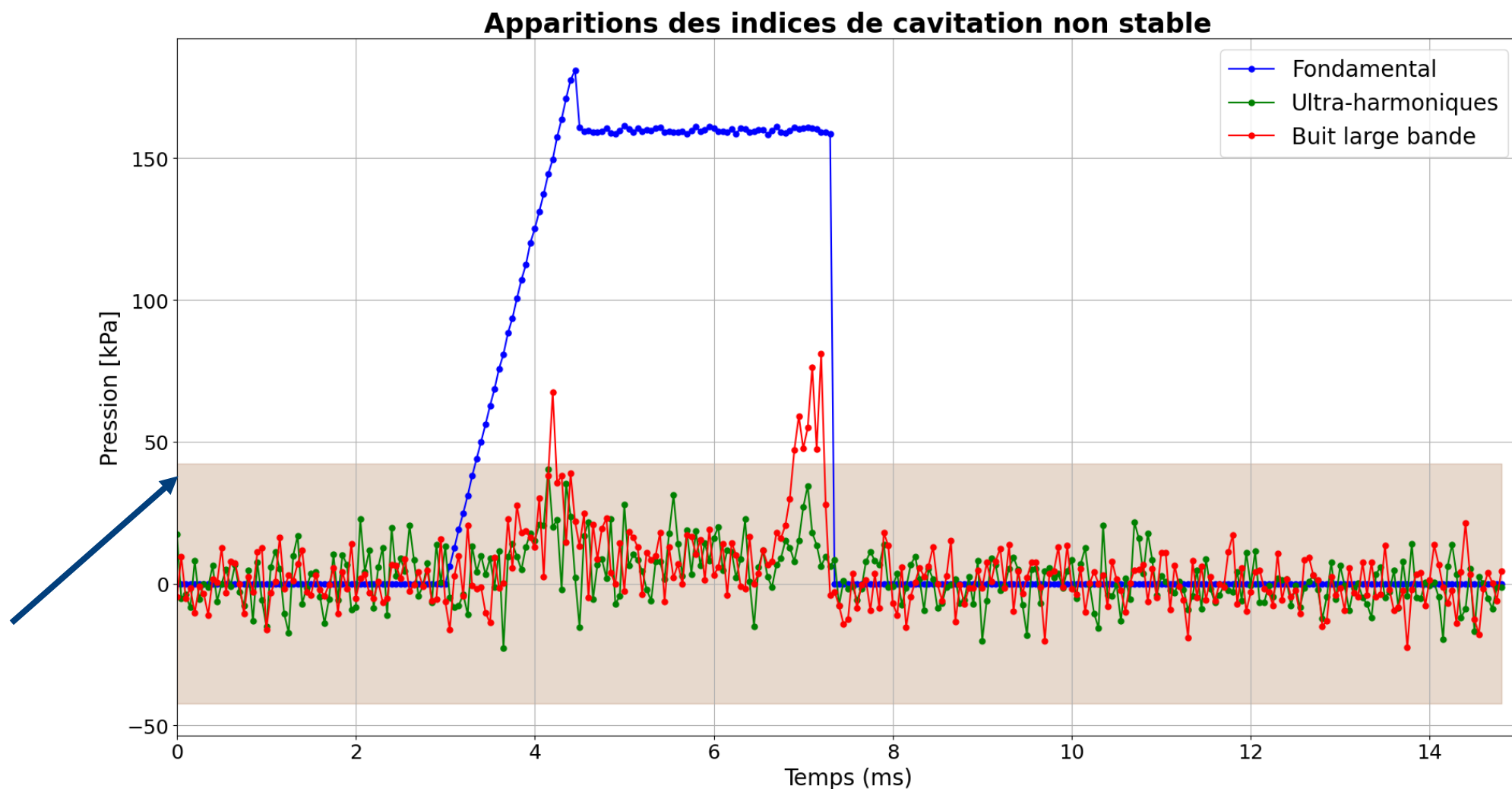
- La pression est réduite avant d'être maintenue constante
- La cavitation non stable peut tout de même réapparaître dans la suite du tir





Une interruption des tirs est utilisée en dernier recours

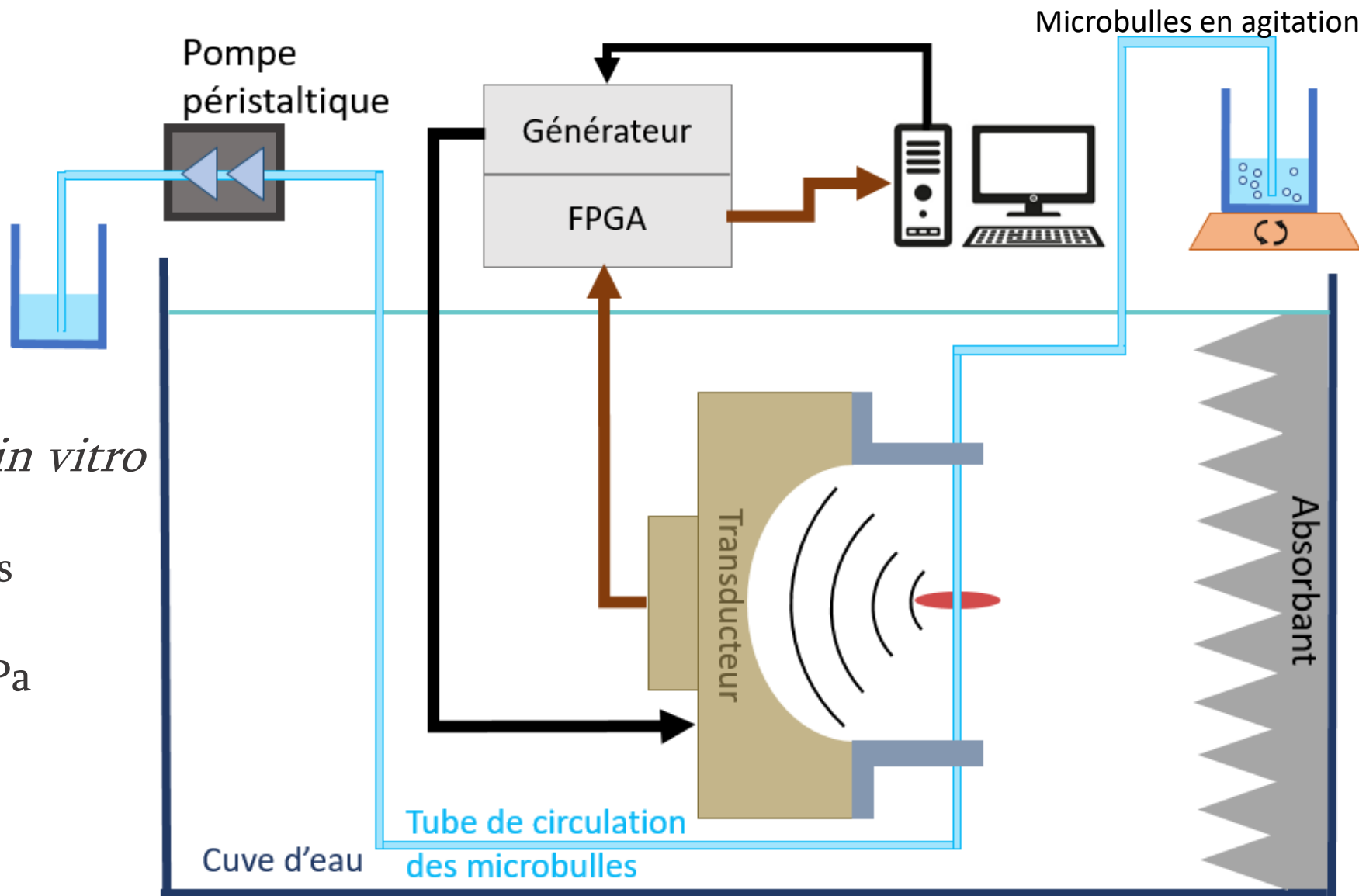
- Le tir est interrompu en cas de récidence de la cavitation non stable après le maintien de la pression





Expérimentation sur des microbulles *in vitro*

- Utilisation du dispositif *in vitro*
- Circulation des microbulles
- Pression maximale : 300 kPa
- 120 secondes : 1200 tirs



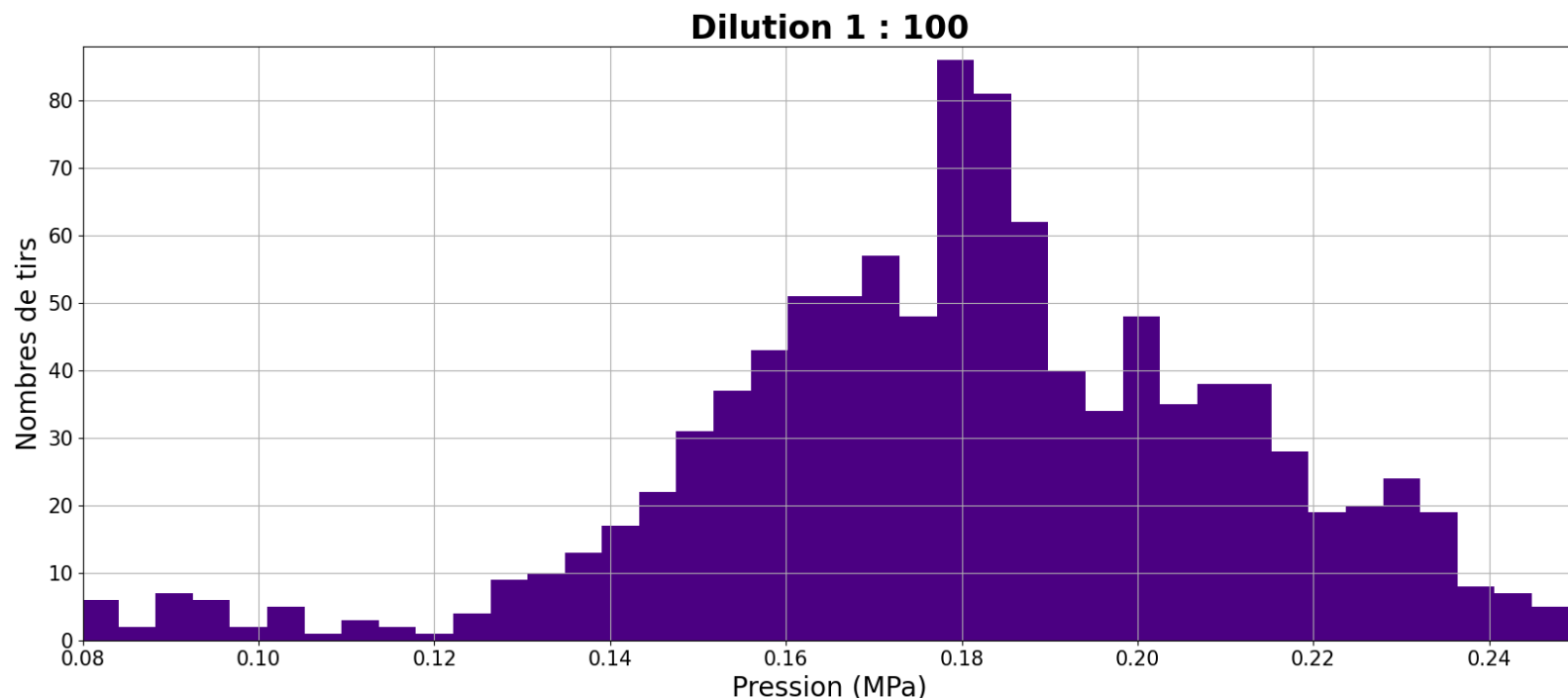


Un histogramme de pression de type gaussien

- Représentation des pressions de maintien obtenues lors d'un tir de 120 secondes
 - Les 1200 pressions de maintien atteintes lors de l'expérience dans un histogramme

100 % des tirs convergent vers une pression de maintien

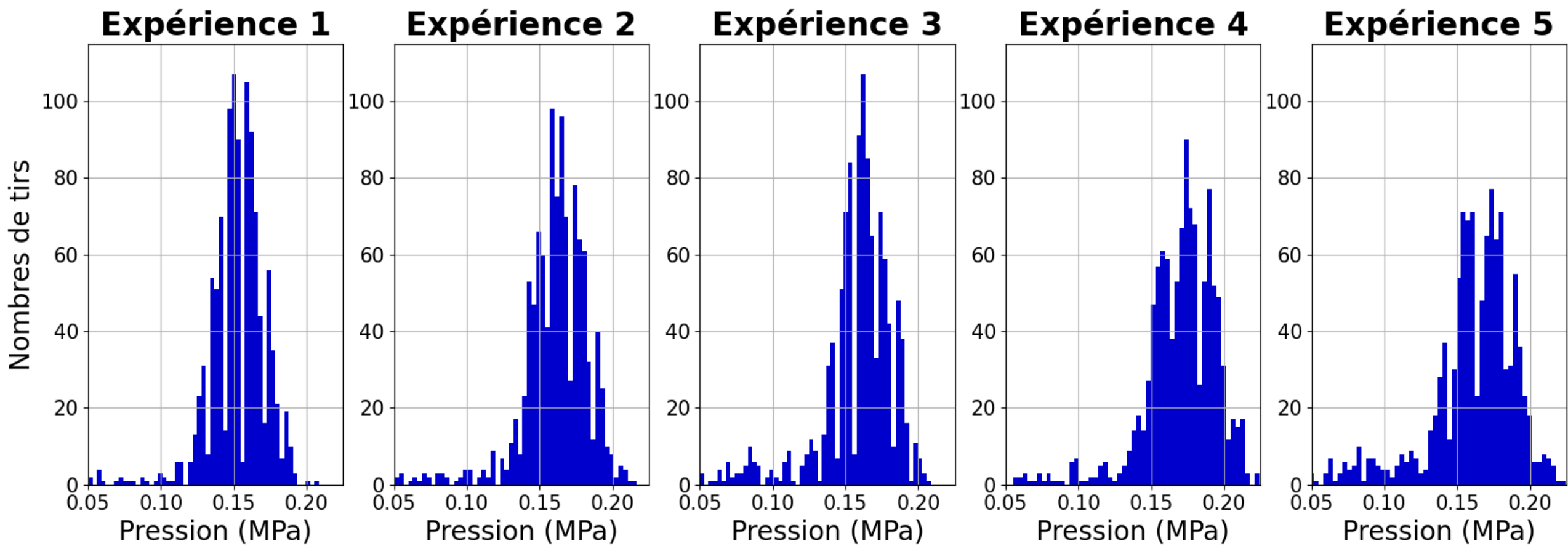
Moins de 1 % des tirs sont interrompus une fois le maintien atteint





Reproductibilité de l'expérience au niveau de la convergence

➤ Reproductibilité de l'algorithme pour différentes expériences se succédant

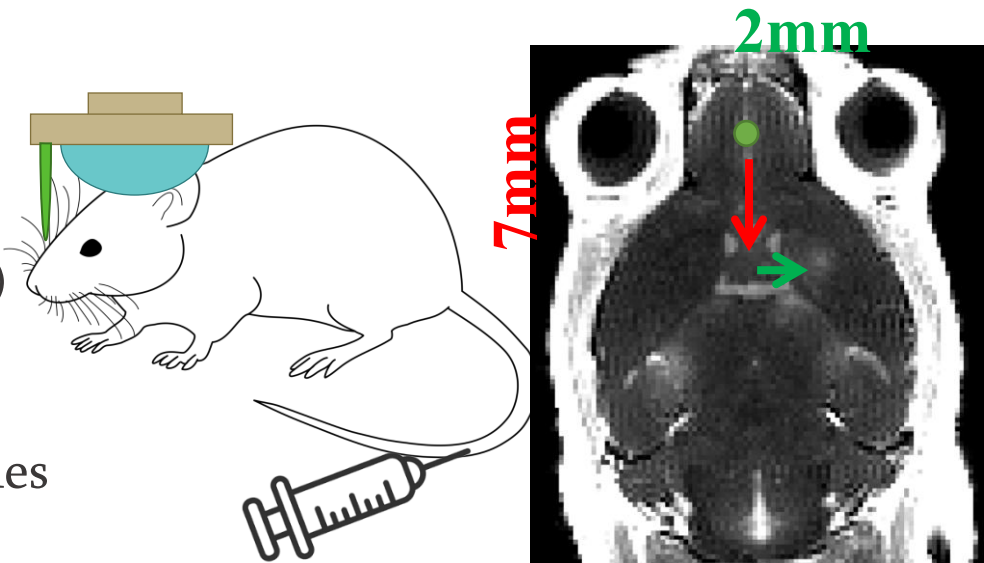




Essai de l'algorithme *in vivo*

➤ Expériences *in vivo* réalisées avec Erwan Selingue:

- 11 souris wild type C57BL/6J
- Anesthésie de l'animal (mélange air/oxygène + isoflurane 2%)
- Rasage de sa tête
- Positionnement du transducteur équipé d'un ballon d'eau
- Vérification du bon couplage au moyen de tirs sans microbulles
- Tirs en présence de microbulles (120 s / 10 Hz)

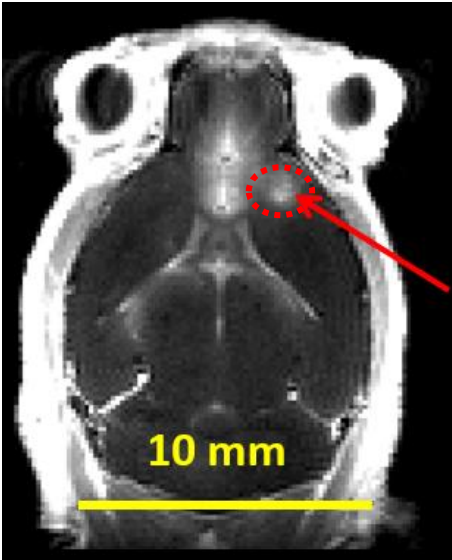


Protocole	Nombre de souris	Interruption des tirs	Réduction de pression
1	3	✗	✗
2	3	✓	✗
3	5	✓	✓



Perméabilisation et absence de détection de dommages avec ce contrôle

Ouverture de BHE et
vérification de l'absence de
dommages pour une souris
par IRM



Séquence T1-w J0
Perméabilisation



Séquence T2* J+1
Absence d'hémorragie



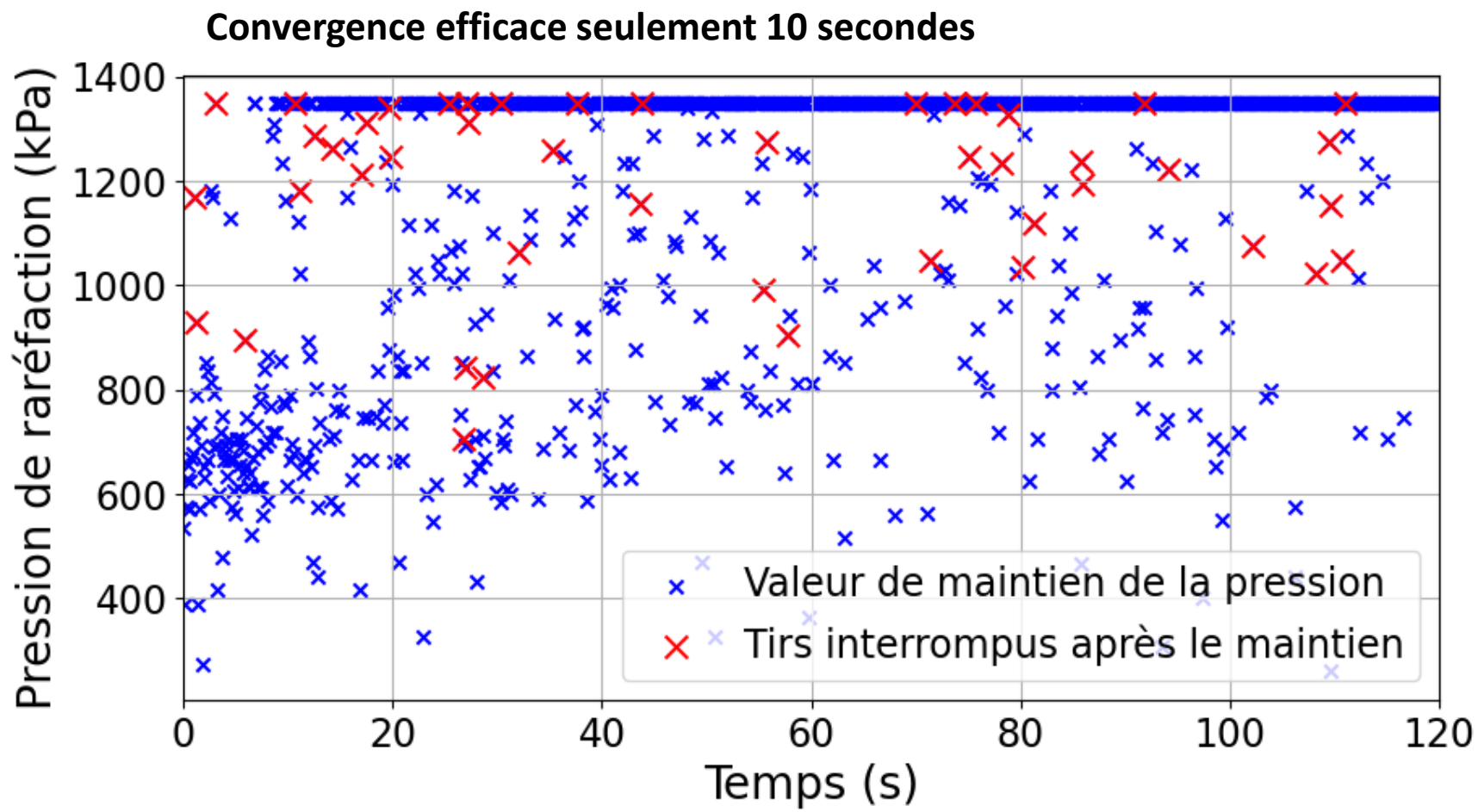
Séquence T2-w J+1
Absence d'œdème

Protocole	Tirs avec perméabilisation	Tirs avec absence de dommages vasculaires
1	3/3	3/3
2	3/3	3/3
3	5/5	5/5



Le signal n'est toutefois pas toujours optimal

Différents résultats de convergence de l'algorithme :



30 % à 95 % des tirs atteignent la pression maximale autorisée
➤ Convergence non optimale de l'algorithme

5 % à 30 % des tirs interrompus

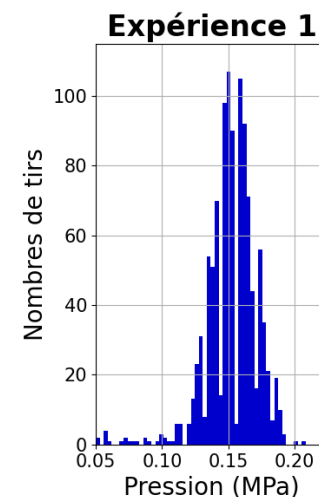


Un algorithme efficace *in vitro* et *in vivo*

❑ Rétroaction ultra-rapide sur la pression émise au sein d'un tir ultrasonore

❑ Algorithme efficace et robuste *in vitro*.

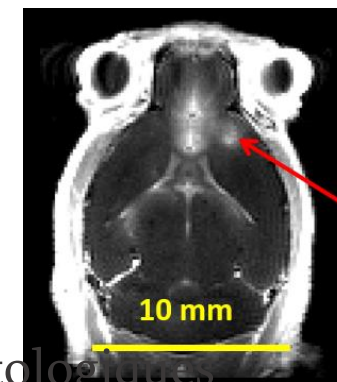
- Aucune saturation et moins de 1 % d'interruption des tirs
- Pression adaptée à chaque tir ultrasonore
- Absence d'apparition de cavitation inertielle de façon prolongée



❑ Algorithme efficace *in vivo* :

- Perméabilisation de la BHE chez l'ensemble des souris scannées
- Aucune détection IRM de dommages chez les 11 souris scannées (sensibilité?)
- Mais rapport signal sur bruit réduit

➤ Perspectives : comparaison avec des algorithmes de l'état de l'art + analyses histologiques





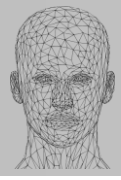
Des indices de cavitation pertinents



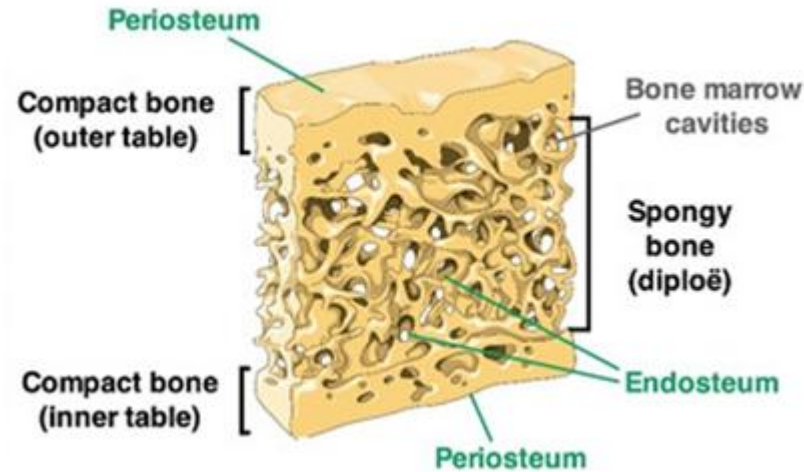
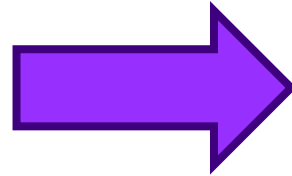
Un contrôle de la cavitation ultra-rapide



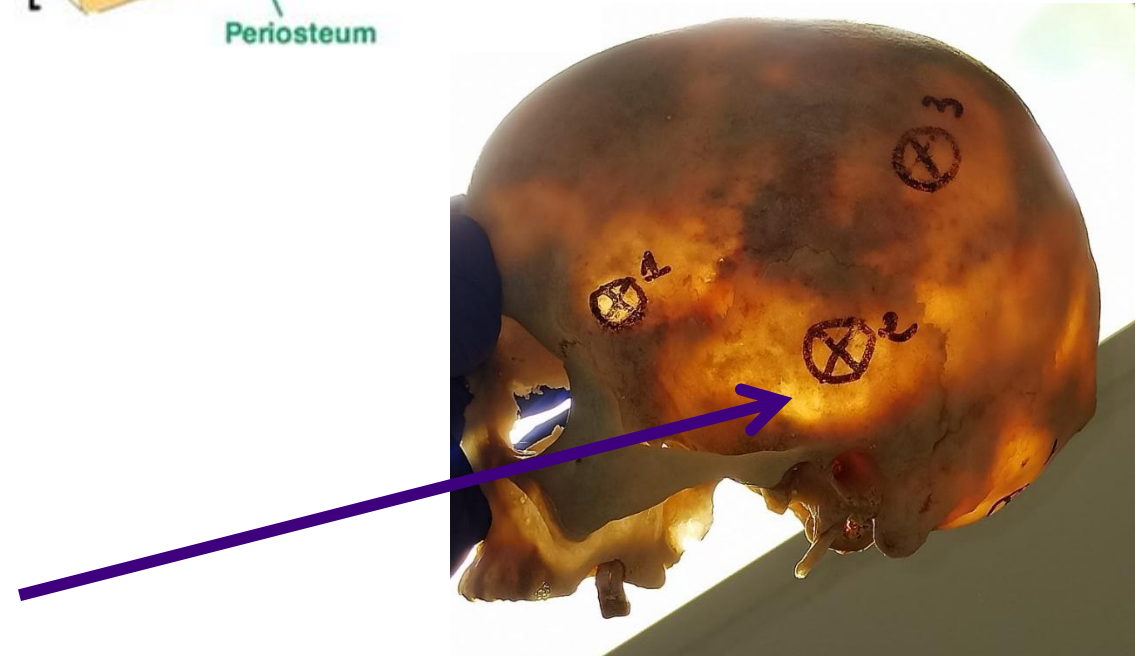
Vers un transfert clinique



Peu de mesures de cavitation au travers d'un crâne humain



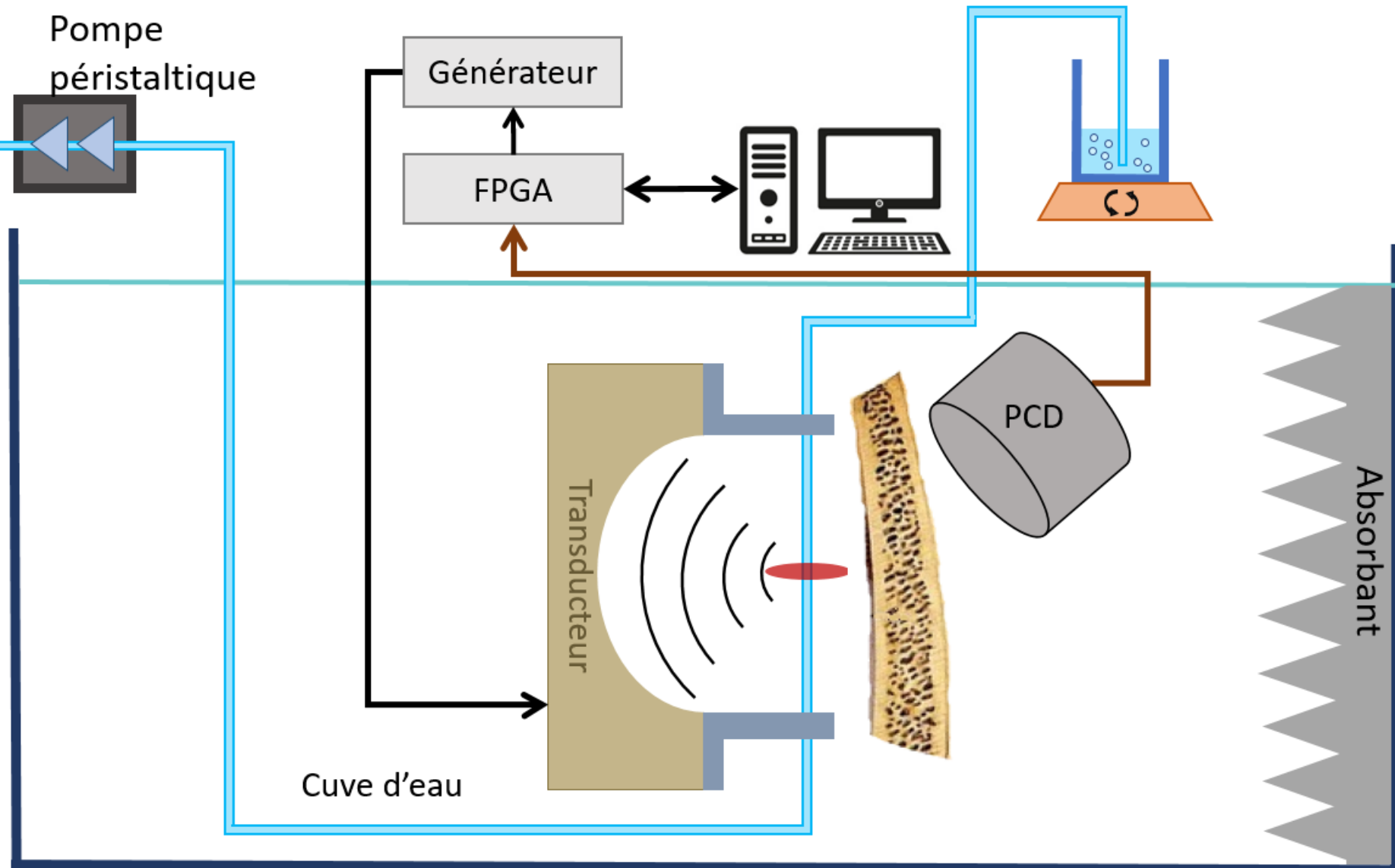
- L'impact de la transmission des ultrasons pour l'émission a été largement étudié
- Les capacités de détection et contrôle de la cavitation au travers du crâne sont peu étudiées
 - Implémentation d'une expérience permettant la mesure et le contrôle de la cavitation au travers du crâne humain

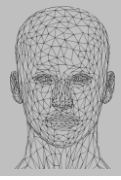




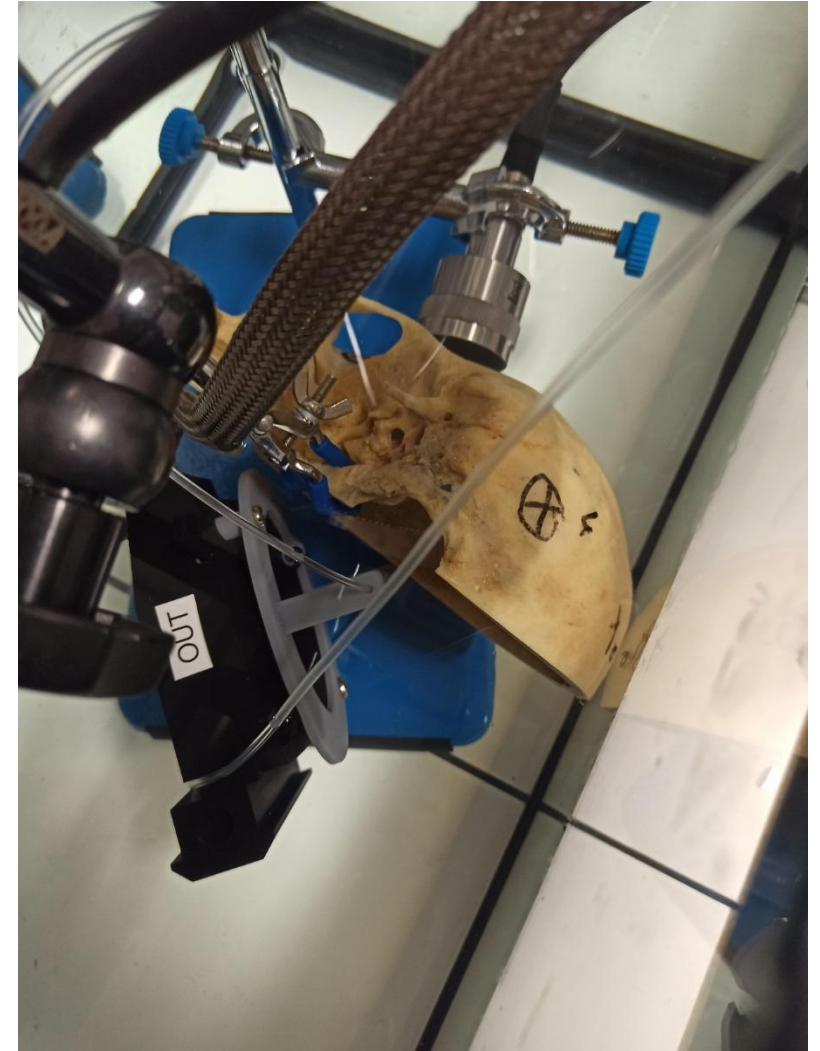
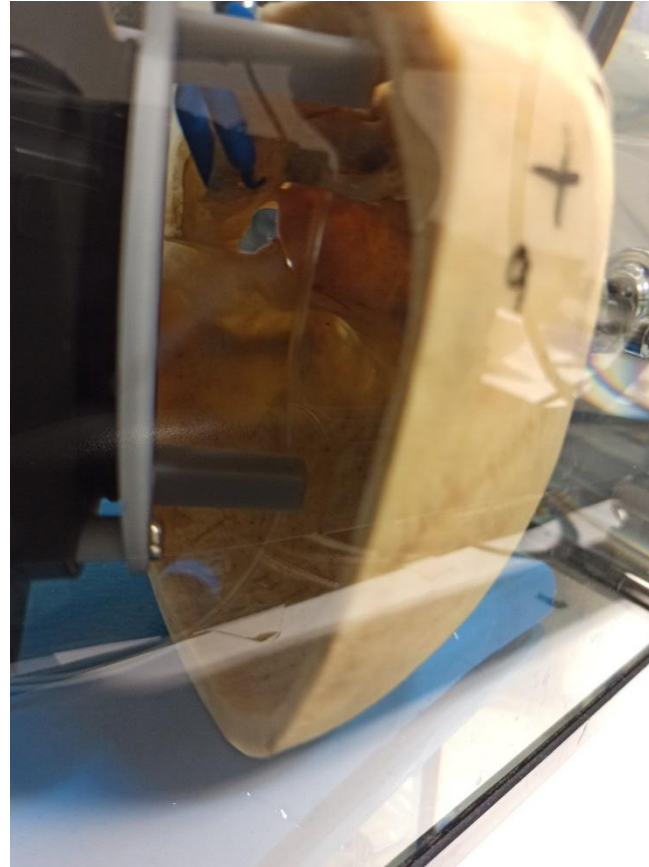
Seul le signal rétrodiffusé traverse le crâne

- Introduction d'un morceau de crâne humain dans le dispositif *in vitro*
- Utilisation du transducteur de fréquence 500 kHz
- Utilisation d'un PCD externe





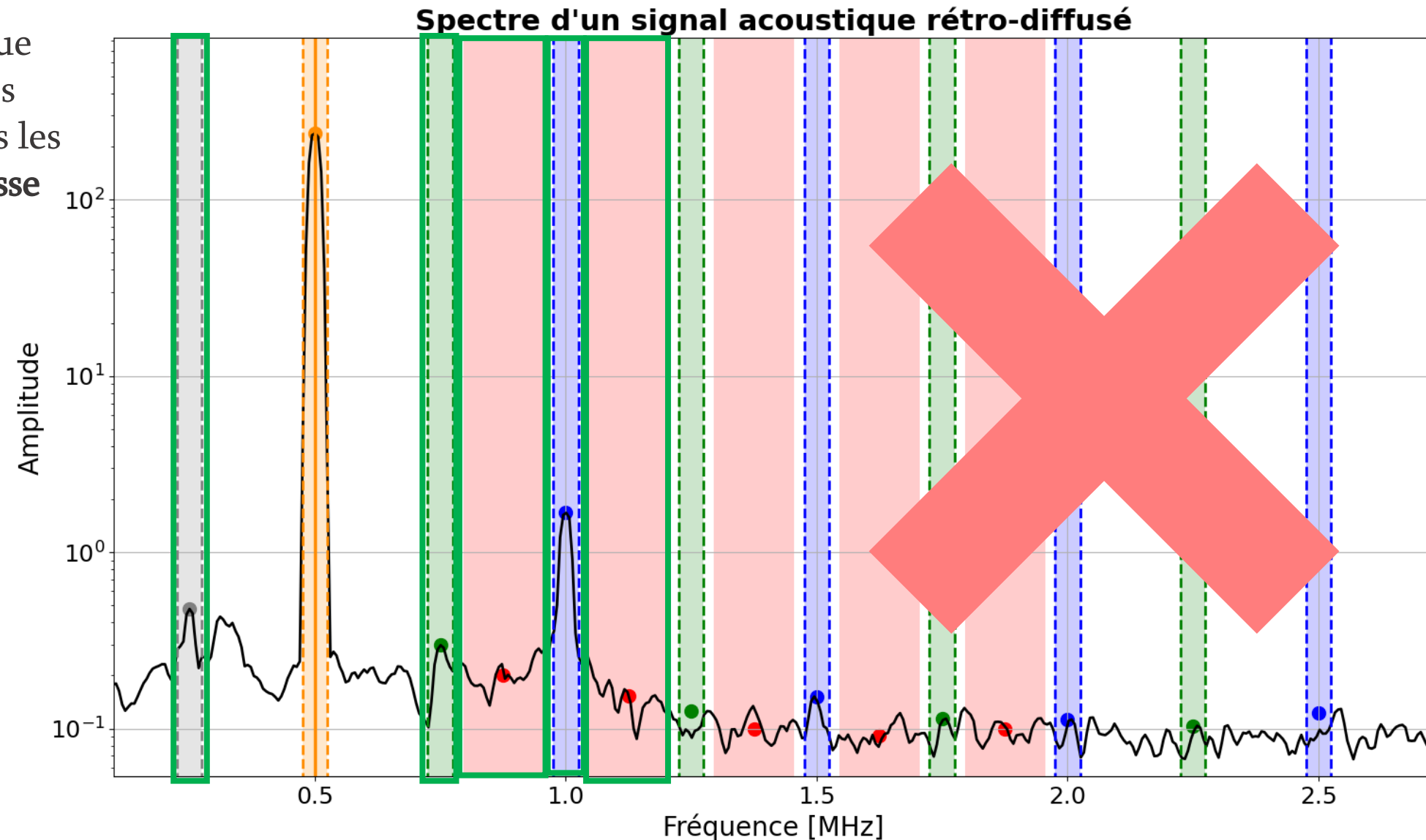
Le tube est placé de façon à simuler de la cavitation intra-crânienne





Les fréquences les plus faibles sont à privilégier

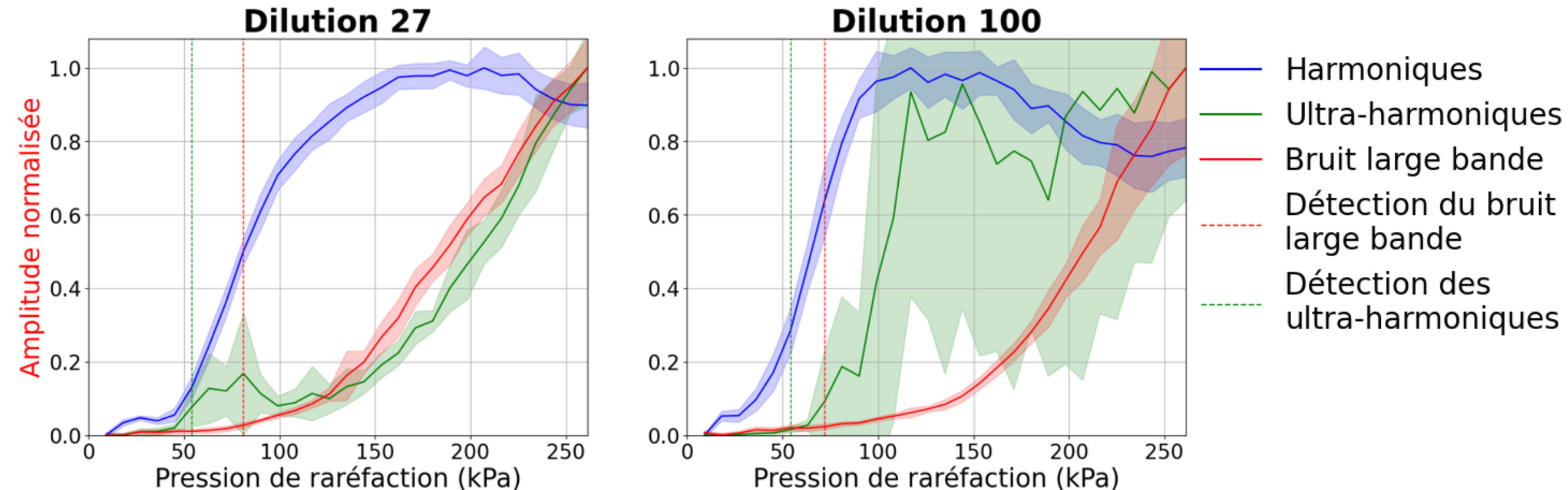
Les composantes de chaque indice les plus observables sont celles aux fréquences les plus faibles : **caractère passe bas fréquentiel du crâne**

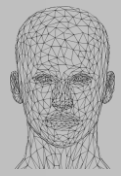




La cavitation non stable est bien détectable au travers du crâne

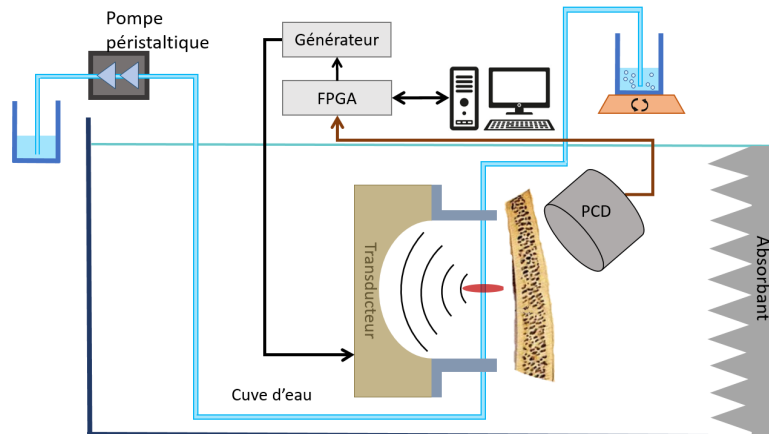
- Les comportements des différents indices sont similaires à ceux observés lors des expériences précédentes
- Les différents indices de cavitation non stable sont détectés malgré l'atténuation par le crâne



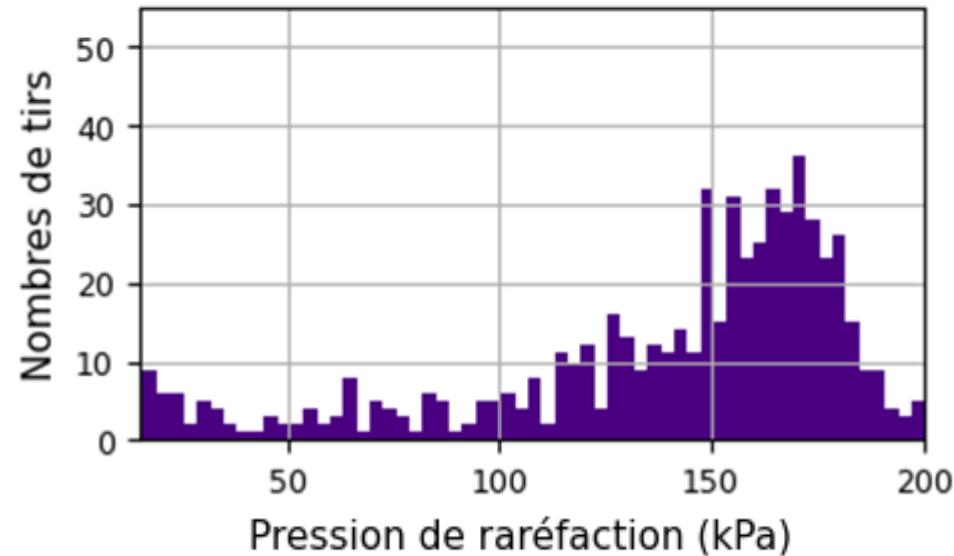
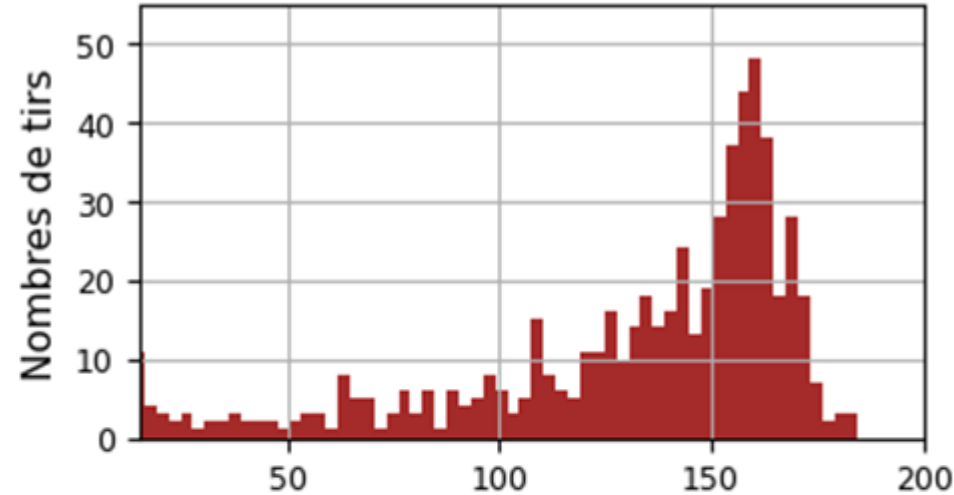


La convergence de l'algorithme n'est que faiblement dégradée

- Algorithme ultra-rapide au travers du crâne
- Dilution des microbulles 1:27
- 120 secondes : 1200 tirs

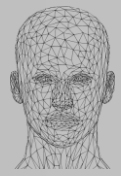


Histogramme des pressions



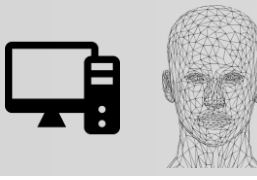
Deux exemples de convergence de l'algorithme au travers du crâne

- Convergence > 99%
- Interruption < 5%

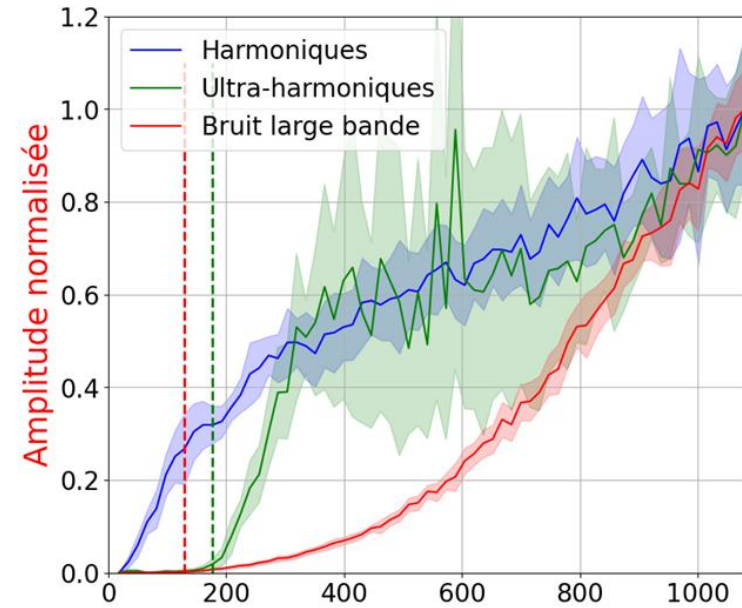


Conclusion

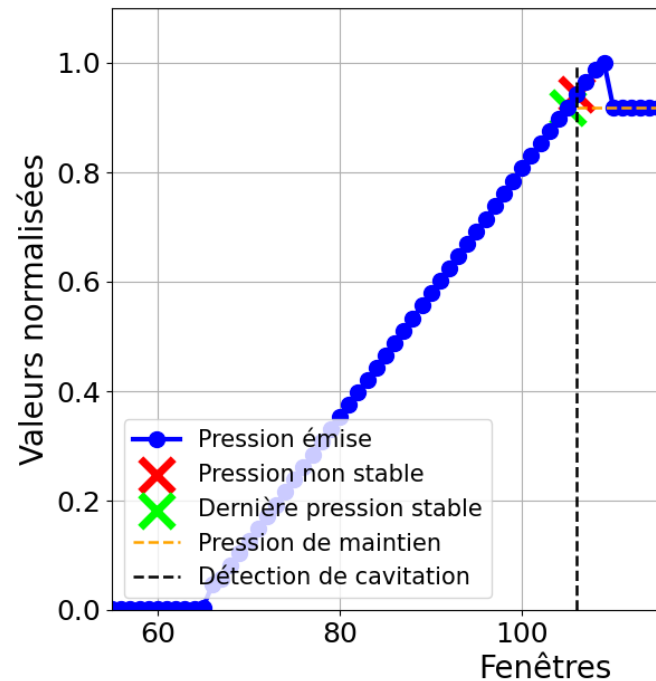
- Capacité de détection des marqueurs de la cavitation non stable
- Sensibilité des indices modifiée par l'atténuation multi fréquentielle du crâne
- Convergence maintenue de l'algorithme de contrôle de la cavitation intra-tir
- Nécessité d'adapter l'analyse des signaux PCD à la configuration de l'expérience
- Possibilité de mesurer et contrôler la cavitation à travers des crânes humains



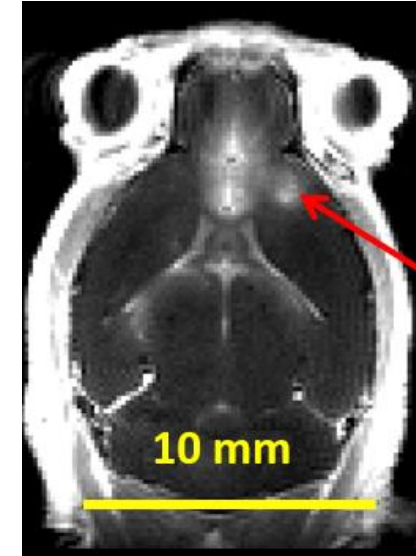
Capacité de détection de la cavitation non stable au travers de divers indices



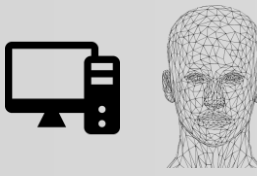
Construction et validation d'un algorithme de limitation de la cavitation non stable à chaque tir



Contrôle efficace au travers d'un crâne humain



Perméabilisation efficace de la BHE avec l'algorithme utilisé lors d'expériences *in vivo*



- ❑ Discrimination entre la cavitation provenant des muscles et des tissus cérébraux lors de perméabilisation de la BHE chez des primates non humains

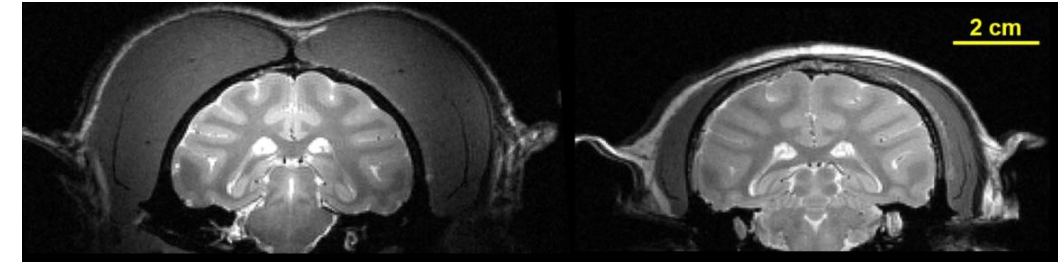
P. Mondou, et al., *Discrimination between intra-cerebral and muscular cavitation for BBB opening in NHP with the spectral content of the backscattered signal*, en préparation

- ❑ Partie expérimentale de la comparaison entre la simulation et les expériences pour la propagation des ultrasons au travers du crâne humain – Thèse de Célestine Angla

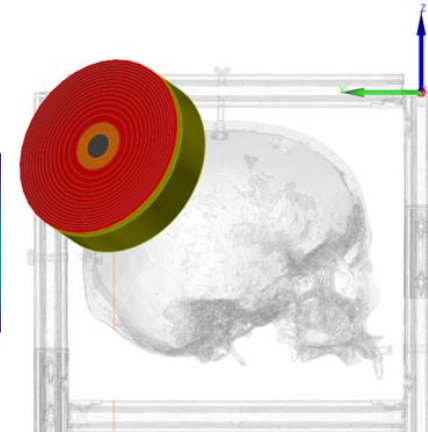
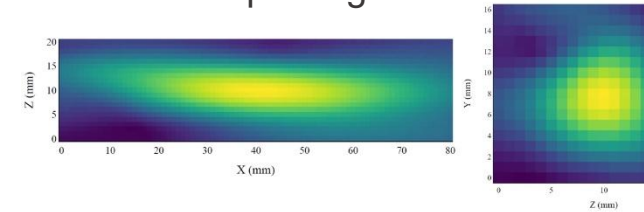
C. Angla, P. Mondou et al., *New semi-analytical method for fast transcranial ultrasonic field simulation*, soumis

- ❑ Collaboration avec Ounay Ishak (ICube, Strasbourg) pour sa thèse portant sur la mesure de la cavitation des microbulles par IRM

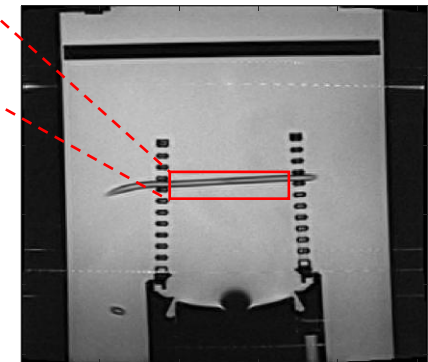
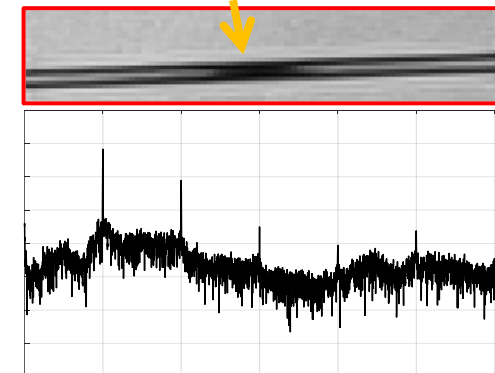
O. Ishak, P. Mondou et al., *MR Cavitation mapping: a promising method for the monitoring of focused ultrasound therapies*, en préparation

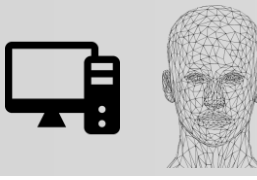


Tâche focale après passage du crâne

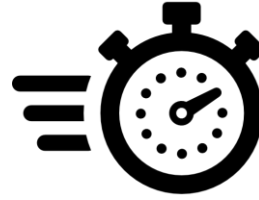


Observation IRM de la cavitation inertielle



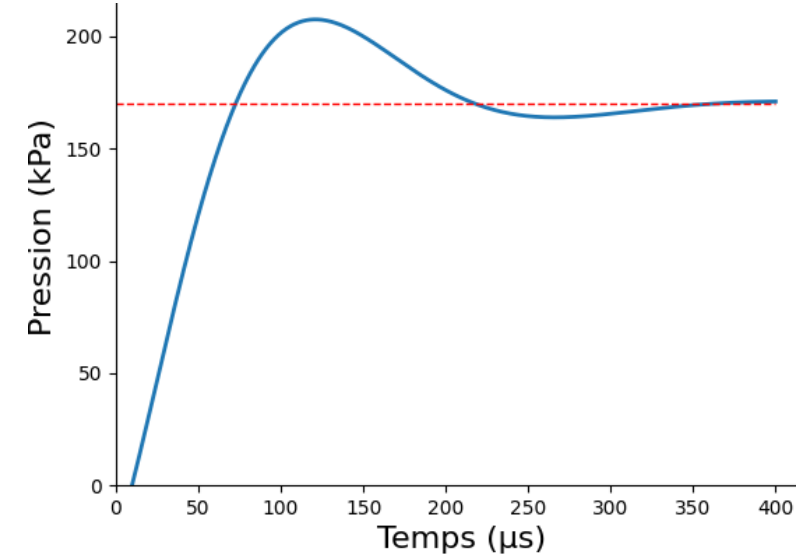
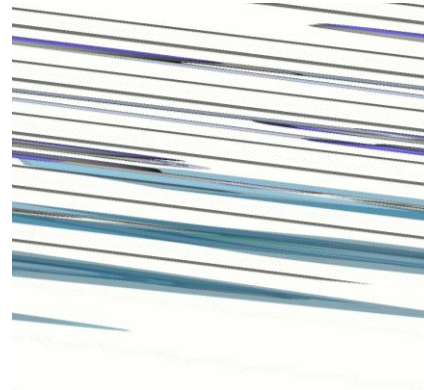


- Optimisation du processus du FPGA pour minimiser la dose de cavitation inertielle

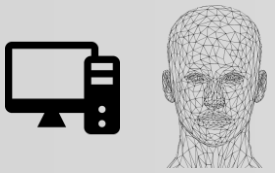


- Algorithmes plus complexes pour accroître l'efficacité des ultrasons

- Extension à des algorithmes de contrôle de cavitation lors de tirs en mouvement



- Valorisation de ce travail de doctorat dans la start-up provenant du laboratoire



Publications dans des journaux internationaux

- **P Mondou**, S Mériaux, F Nageotte, J Vappou, A Novell and B Larrat, *State of the art on micro-bubble cavitation monitoring and feedback control for blood-brain-barrier opening using focused ultrasound*, Physics in Medicine & Biology, Volume 68, Number 18, 2023
- **P Mondou**, C Morisset, C Cornu, S Mériaux, F Nageotte, J Vappou, A Novell, Z Qi, R Aron Badin, J Flament and B Larrat, *Discrimination between intra-cerebral and muscular cavitation for BBB opening in NHP with the spectral content of the backscattered signal*, en préparation
- **P Mondou**, S Mériaux, F Nageotte, J Vappou, A Novell and B Larrat, *In vitro characterization of microbubbles cavitation for optimized BBB opening*, en préparation

Publications dans des congrès internationaux

- **P Mondou**, S Mériaux, F Nageotte, J Vappou, A Novell and B Larrat, *In vitro characterization of microbubbles cavitation for optimized BBB opening*, ISTU 2023, Lyon - poster et présentation orale
- C Cornu, A Novell, E Selingue, **P Mondou**, P Agou, S Mériaux and B Larrat, *Ultrafast Intrapulse Feedback Control of FUS-induced BBB Disruption*, ISTU 2022, Toronto - présentation orale
- C Cornu, A Novell, E Selingue, **P Mondou**, P Agou, S Mériaux and B Larrat, *Ultrafast Intrapulse Feedback Control of FUS-induced BBB Disruption*, IEE 2022, Venise - poster

Publications dans des congrès nationaux

- O Ishak, E Breton, P Cabras, **P Mondou**, B Larrat et J Vappou, *Monitoring de la cavitation pendant les thérapies ultrasonores guidées par IRM*, SFRMBM 2023, Paris - poster





Merci pour votre attention

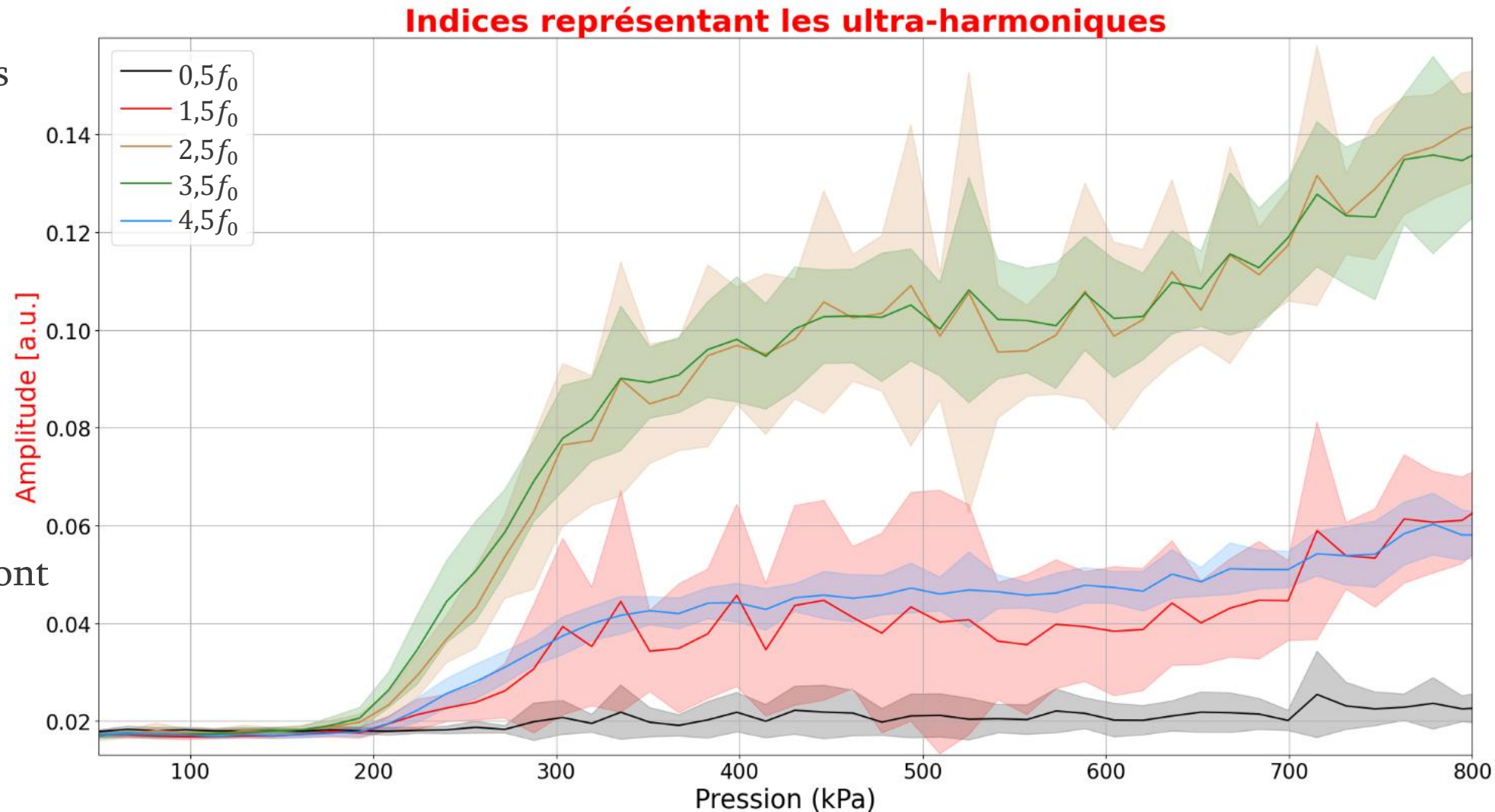




Annexes Indices

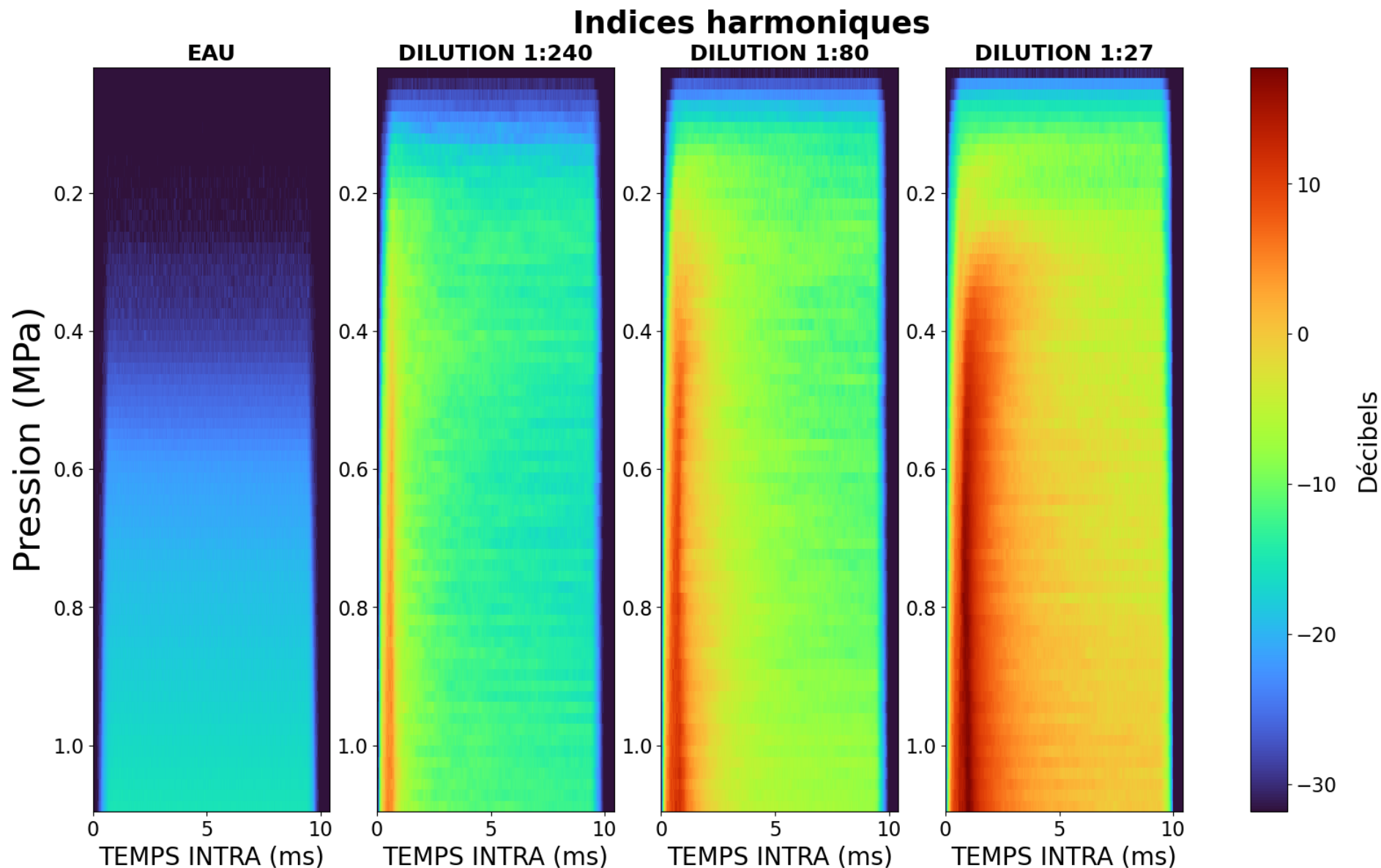
Les composantes les plus importantes sont privilégiées

- $2f_0$ et $3f_0$ sont utilisés pour calculer l'indice des harmoniques
- $1,5f_0$, $2,5f_0$ et $3,5f_0$ sont utilisés pour calculer l'indice des ultra-harmoniques



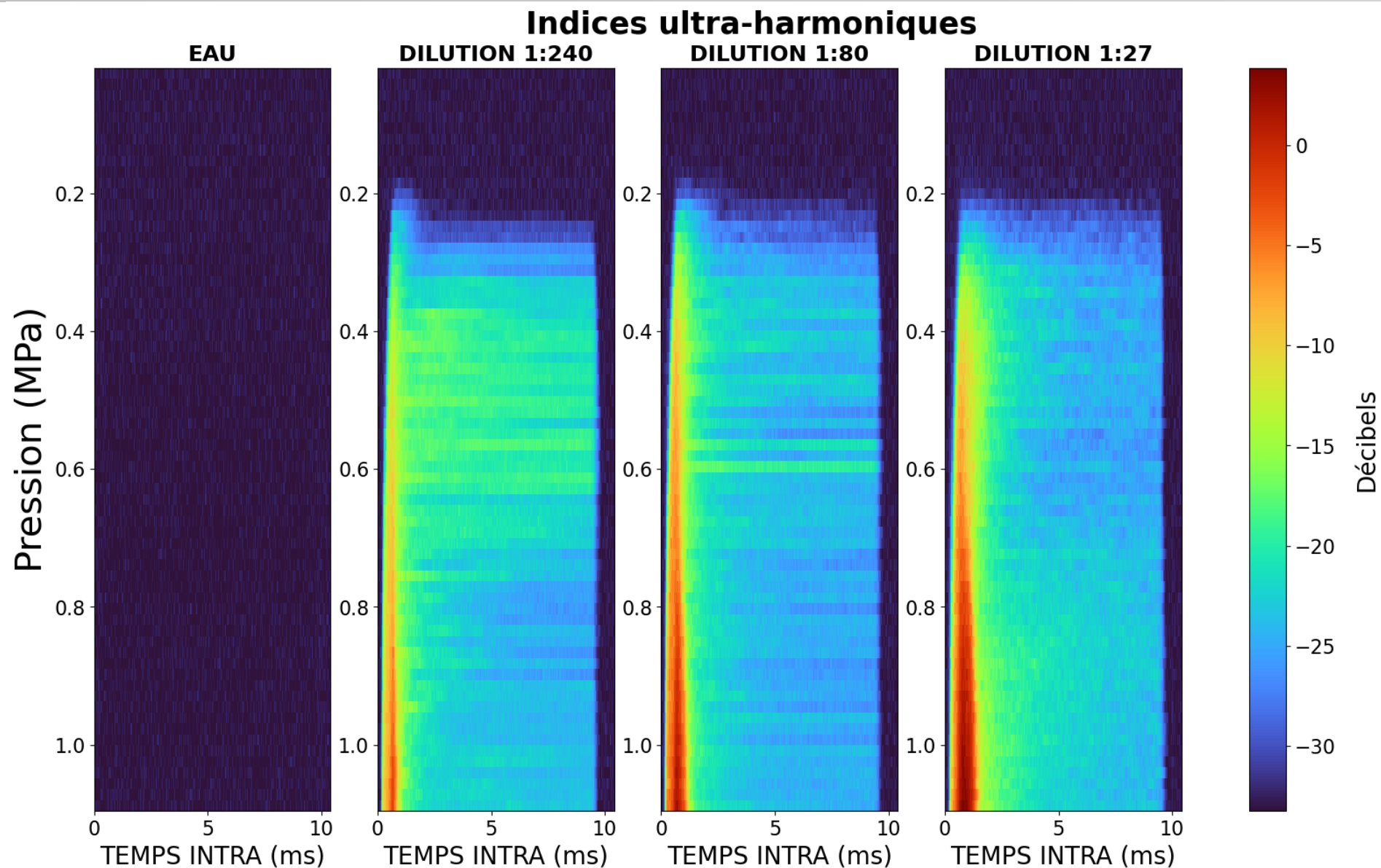


Cartes de cavitation : tirs trapézoïdaux



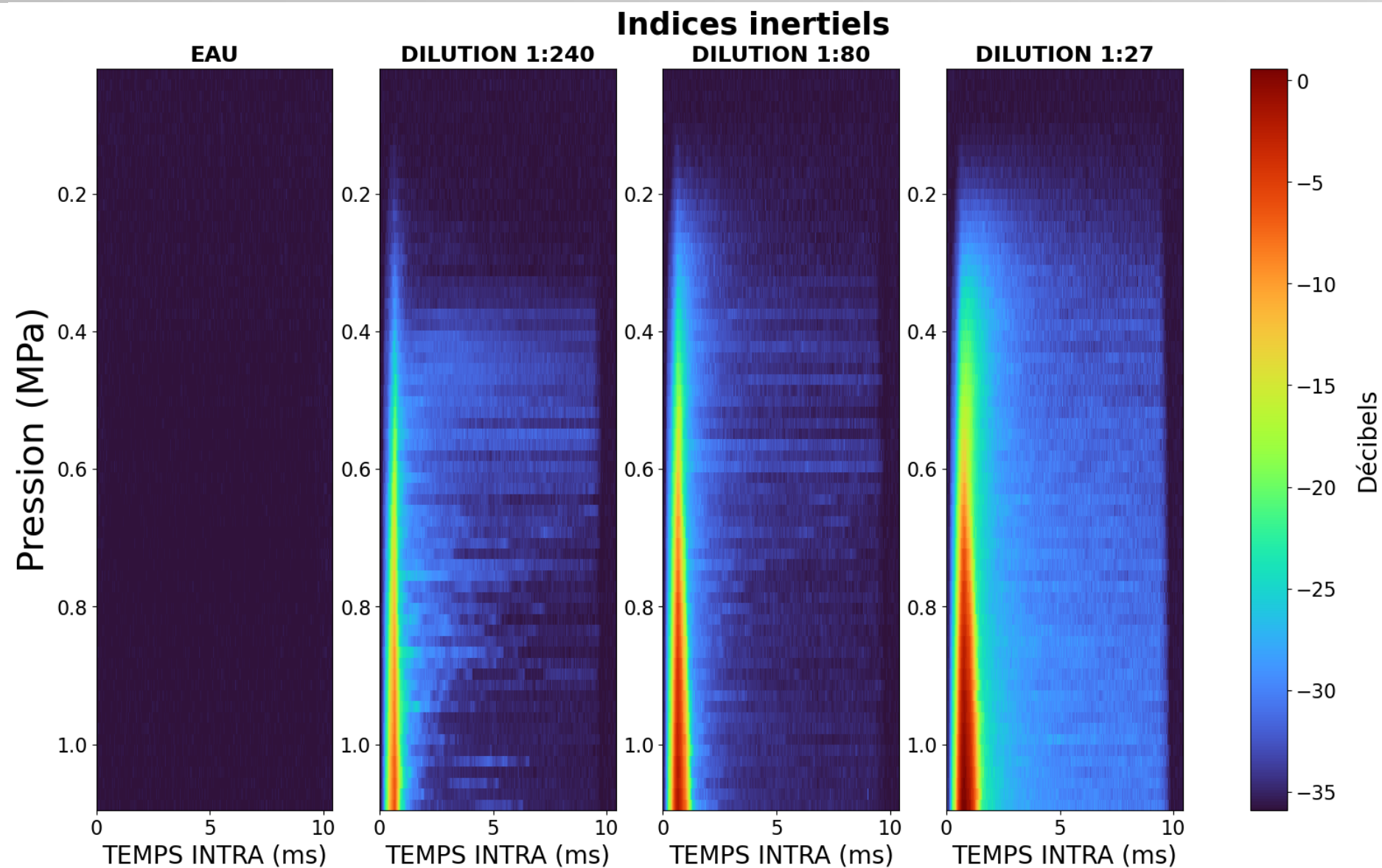


Cartes de cavitation : tirs trapézoïdaux

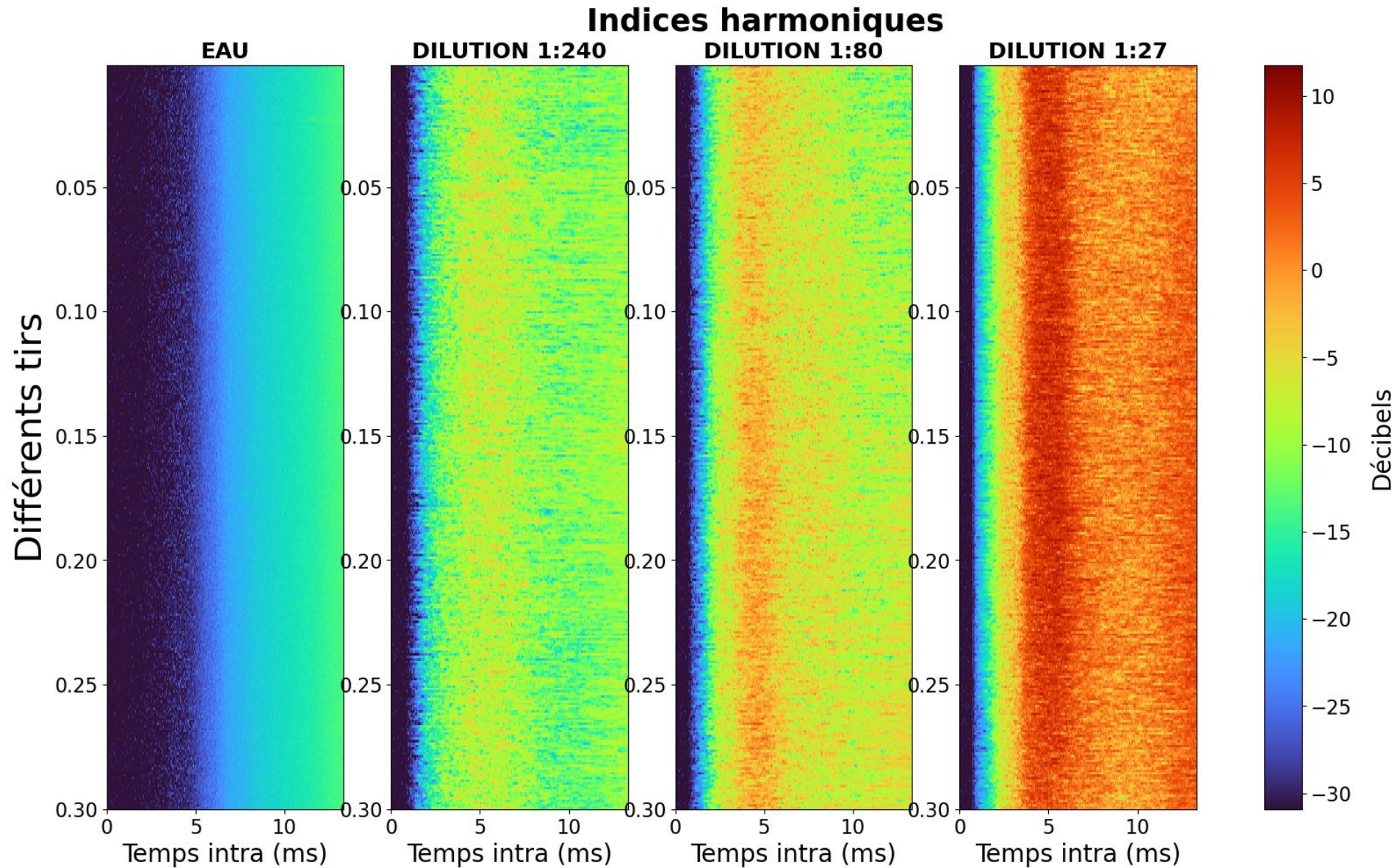




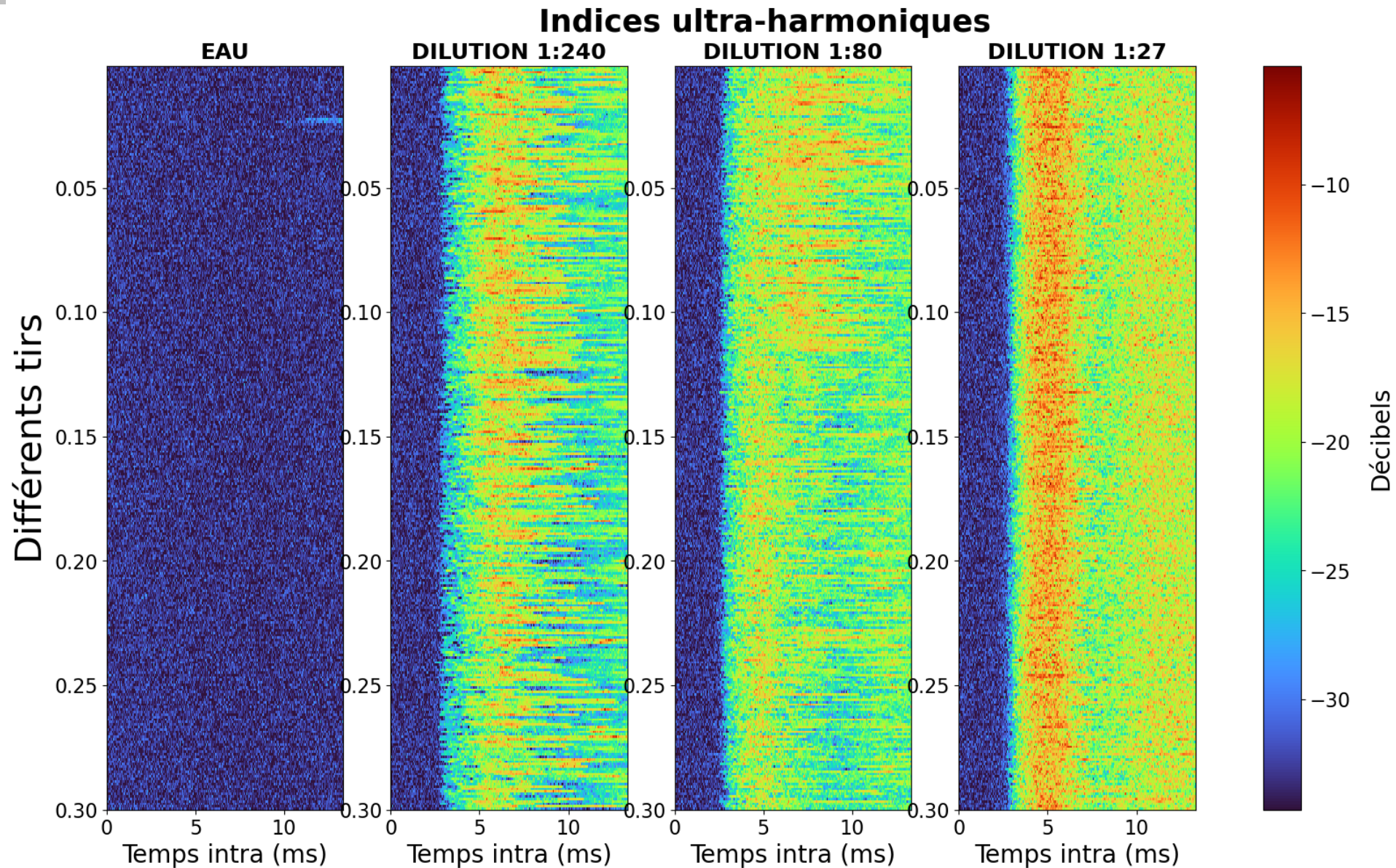
Cartes de cavitation : tirs trapézoïdaux



Cartes de cavitation : tirs triangulaires

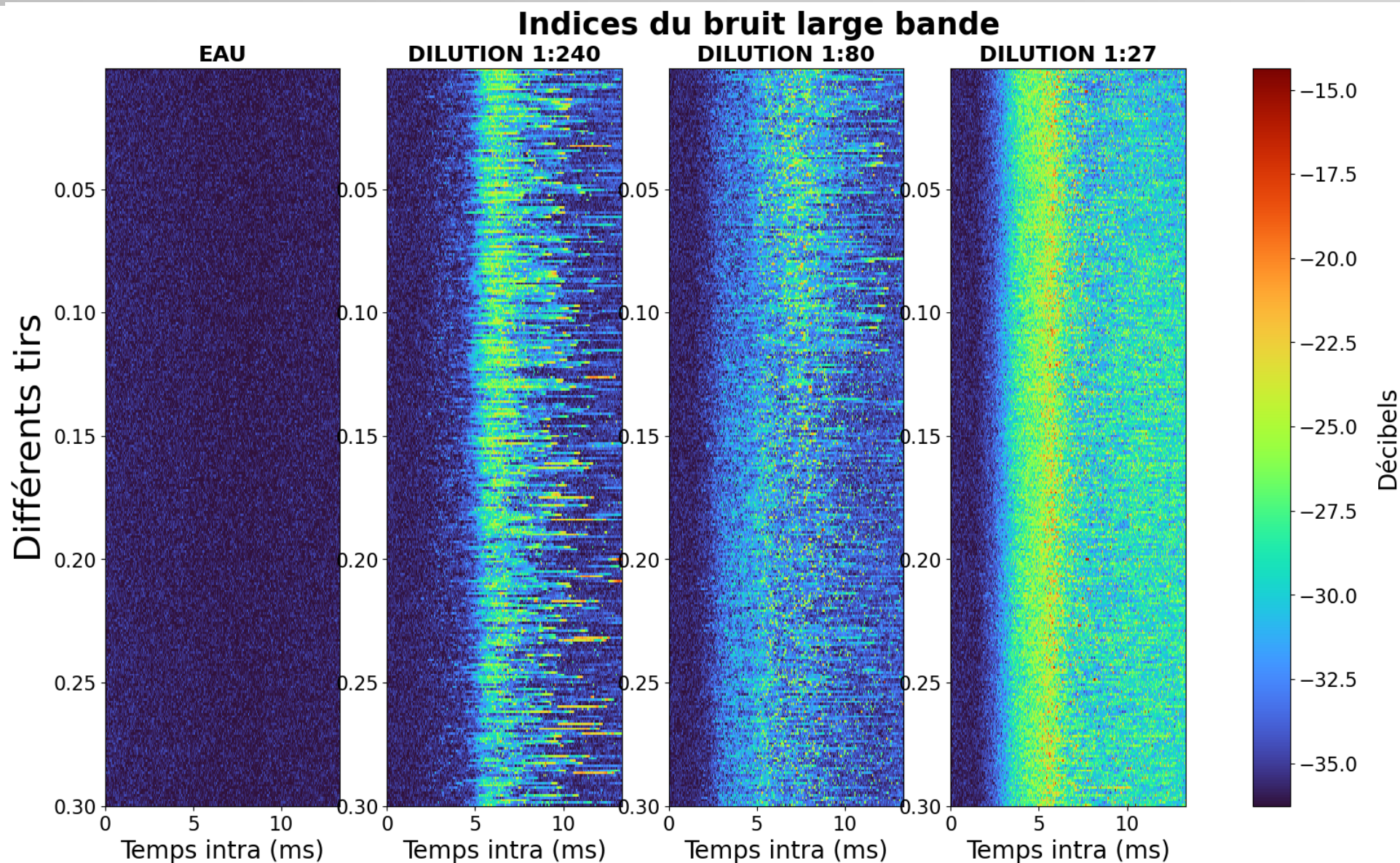


Cartes de cavitation : tirs triangulaires





Cartes de cavitation : tirs triangulaires



➤ Tirs trapézoïdaux

	Seuils de pression du bruit large bande			Seuils de pression des ultra-harmoniques		
Dilution	1 :27	1 :80	1 :240	1 :27	1 :80	1 :240
Flacon 1	129 kPa	129 kPa	161 kPa	177 kPa	177 kPa	177 kPa
Flacon 2	193 kPa	177 kPa	240 kPa	224 kPa	224 kPa	240 kPa
Flacon 3	129 kPa	129 kPa	161 kPa	145 kPa	161 kPa	161 kPa

➤ Tirs triangulaires

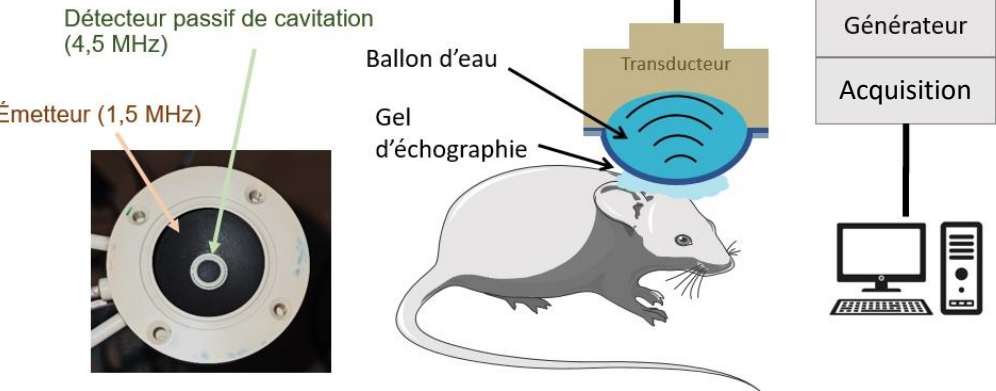
	Seuils de pression du bruit large bande			Seuils de pression des ultra-harmoniques		
Dilution	1 :27	1 :80	1 :240	1 :27	1 :80	1 :240
Flacon 1	158 kPa	182 kPa	362 kPa	211 kPa	203 kPa	227 kPa
Flacon 2	202 kPa	388 kPa	456 kPa	234 kPa	275 kPa	326 kPa
Flacon 3	145 kPa	186 kPa	283 kPa	186 kPa	207 kPa	222 kPa



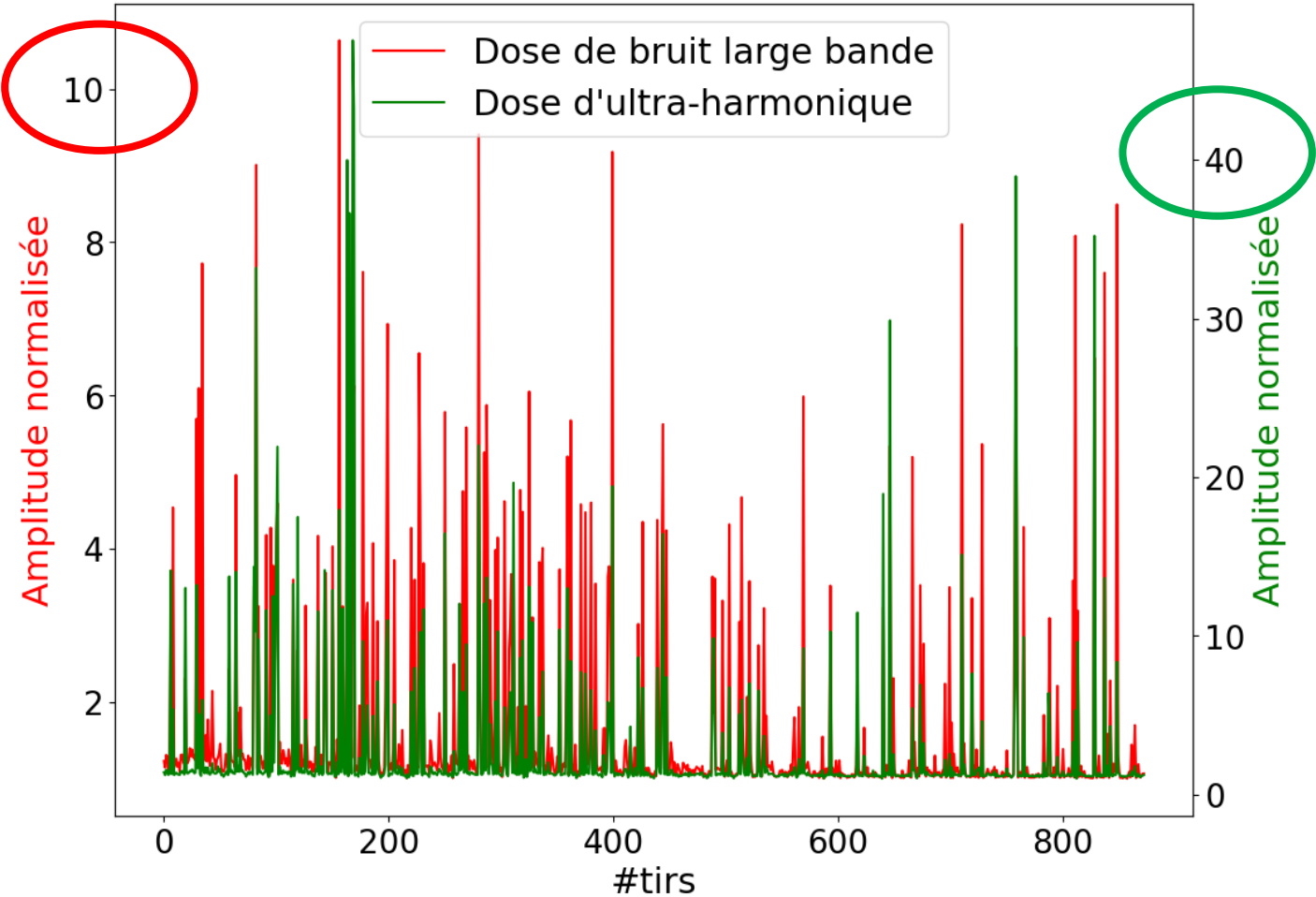
Annexes contrôle



La cavitation est stochastique



Indices de cavitation non stable obtenus *in vivo*





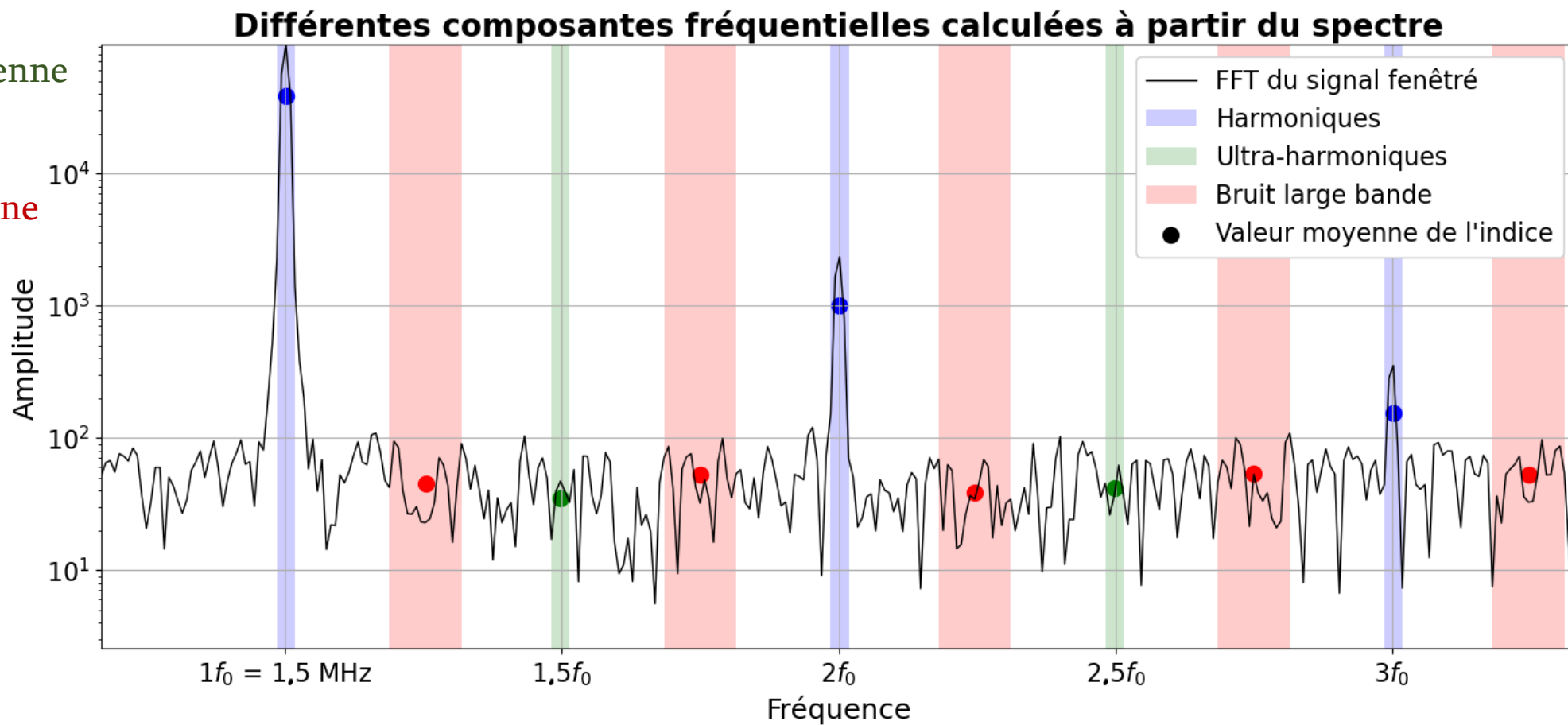
Les indices calculés pour le FPGA

➤ Indices calculés et utilisés pour la rétroaction

Harmoniques : moyenne sur 5 points

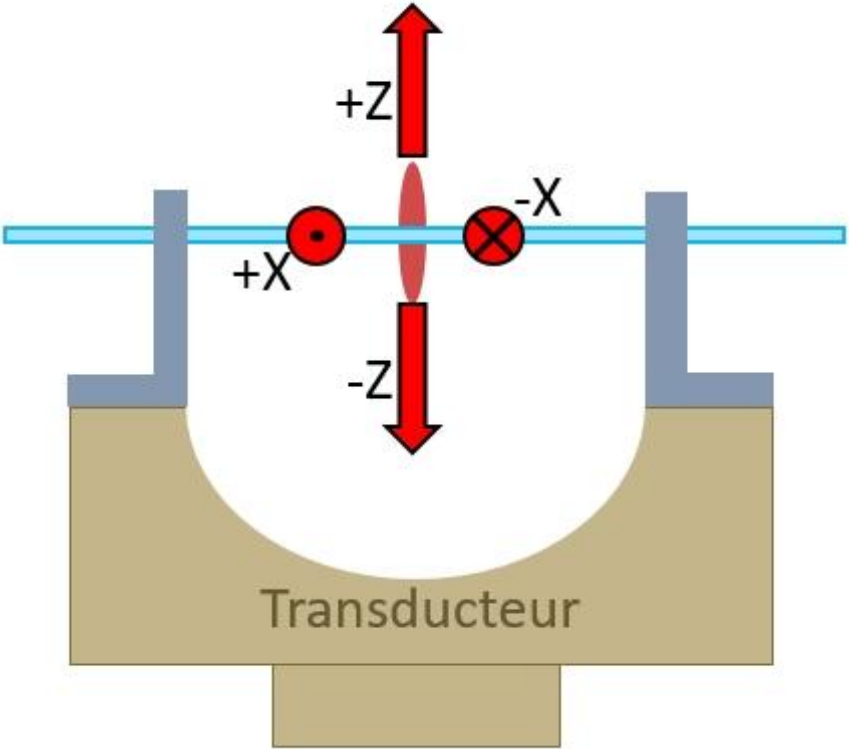
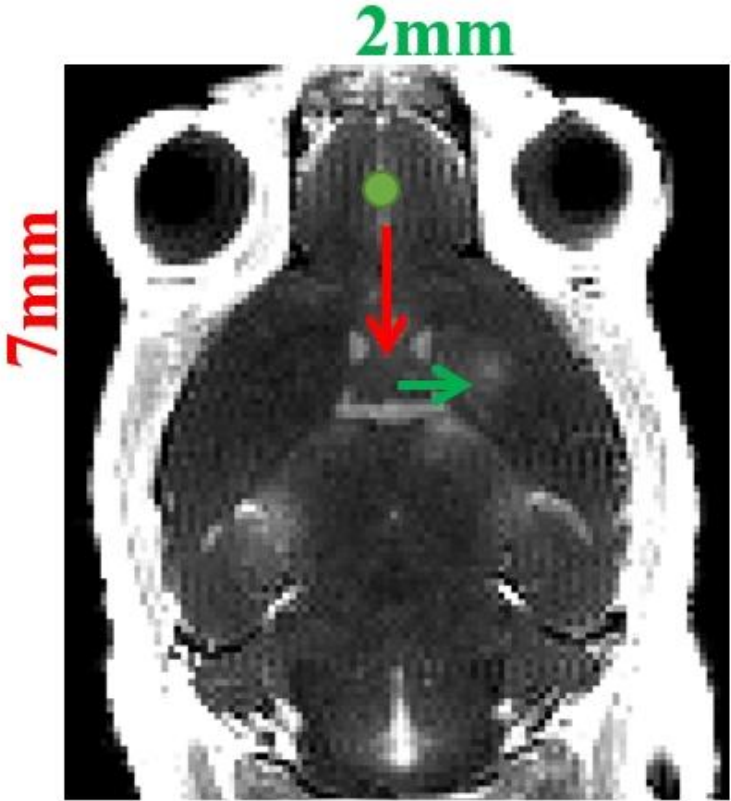
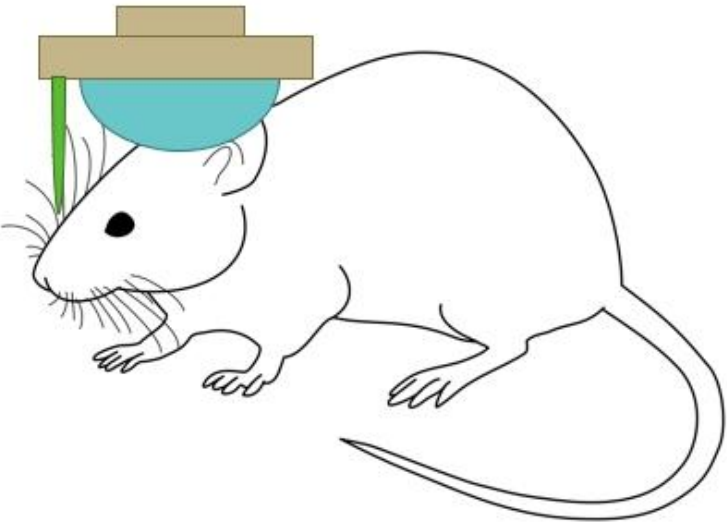
Ultra-harmoniques : moyenne sur 5 points

Bruit large bande : moyenne sur 16 points



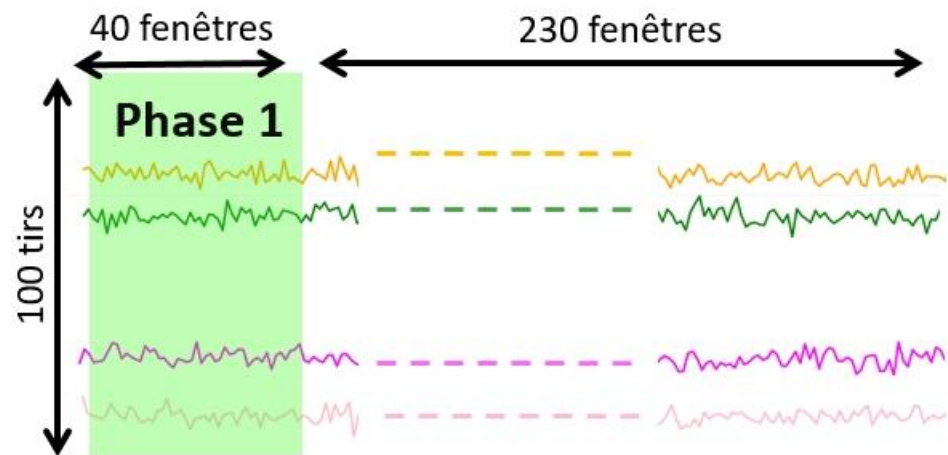


Positionnement in vitro / in vivo



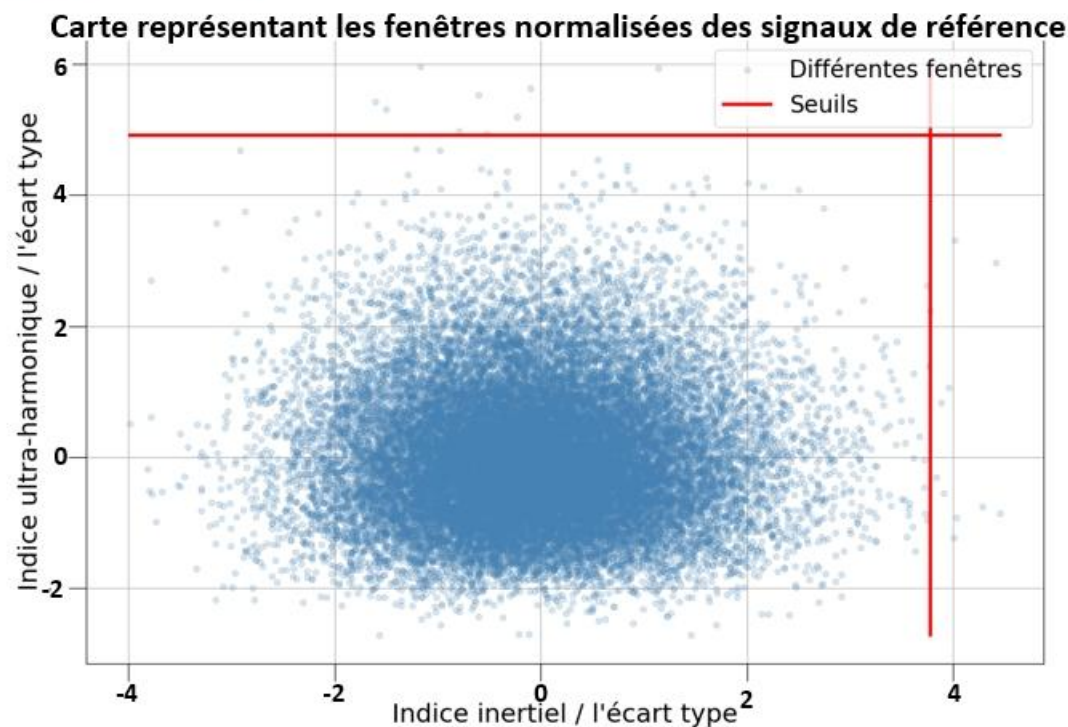


Définition des seuils de détection



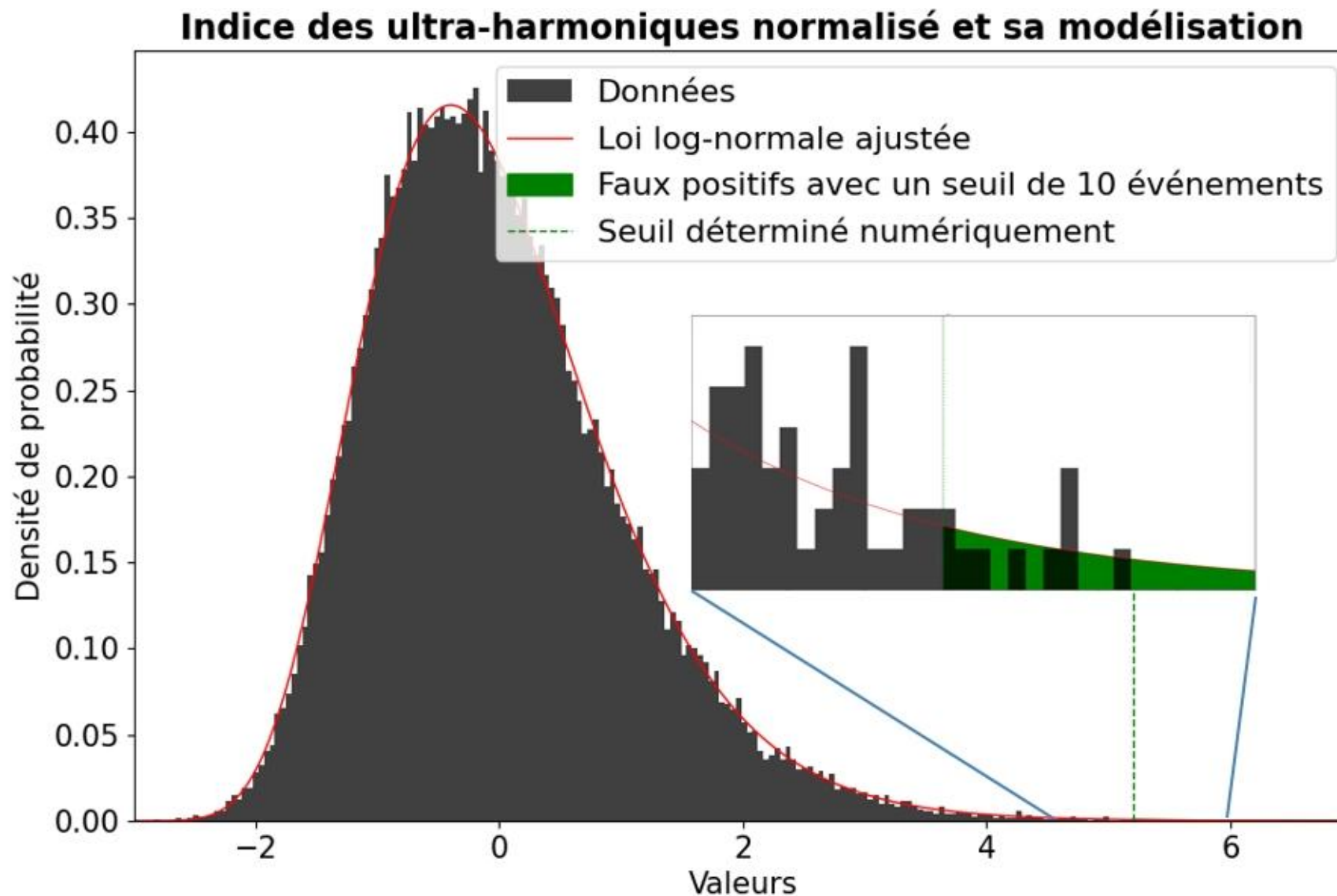
Moyenne et écart type de la phase 1 pour normaliser les phases 2 et 3

On place 2 limites telles que seuls 10 événements leur sont supérieurs





Définition des seuils de détection





Discrimination de la cavitation chez le PNH



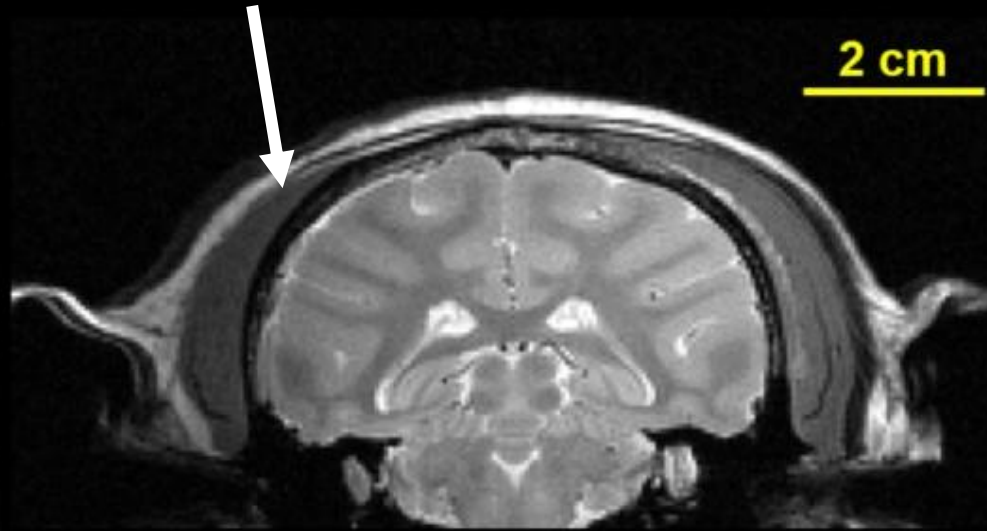
Épaisseur des muscles

Problème de convergence de l'algorithme lors d'expérience chez des sujets mâles avec des muscles temporaux (>20 mm)

Muscles épais



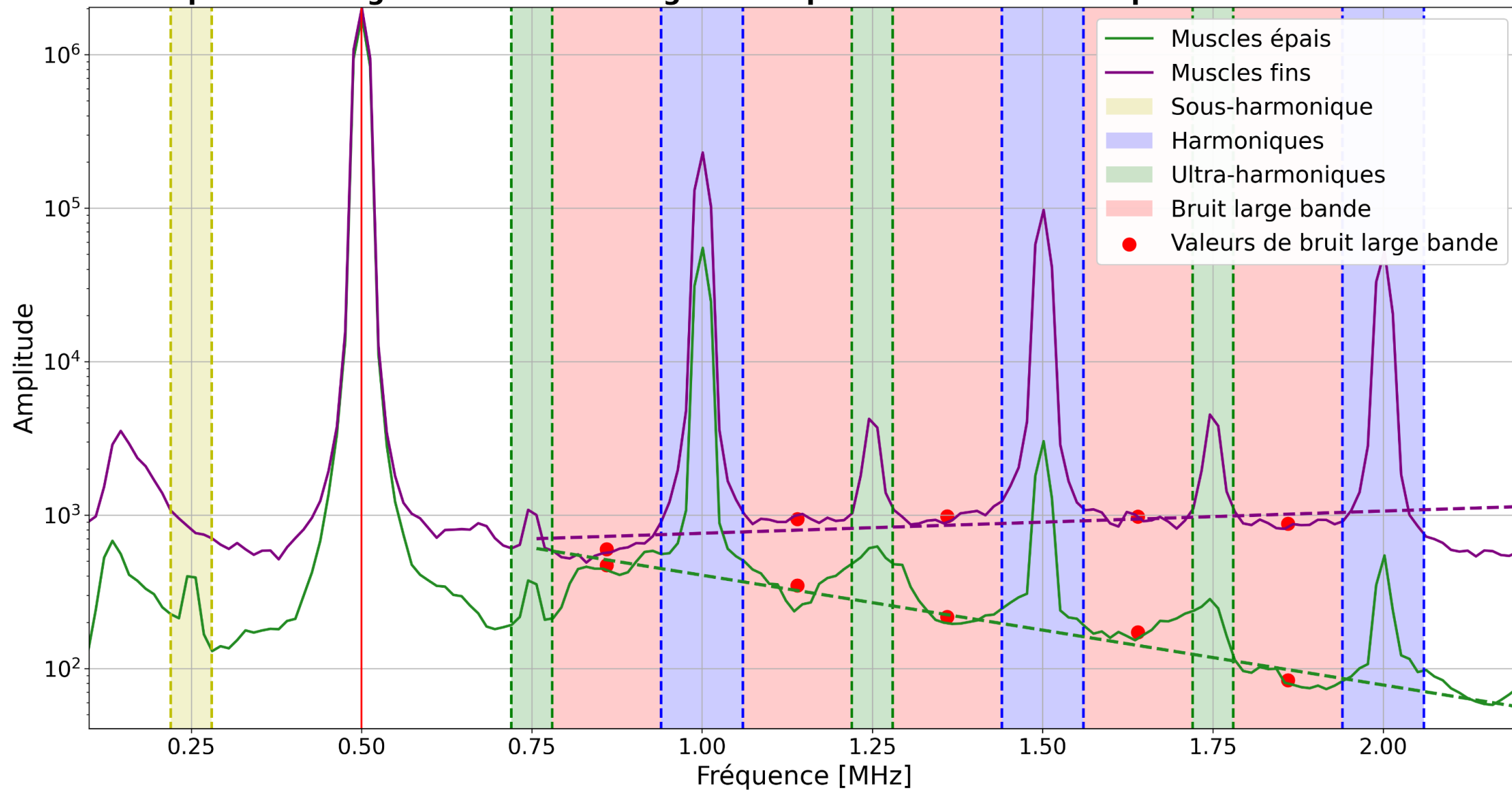
Muscles fins





Comparaison des spectres

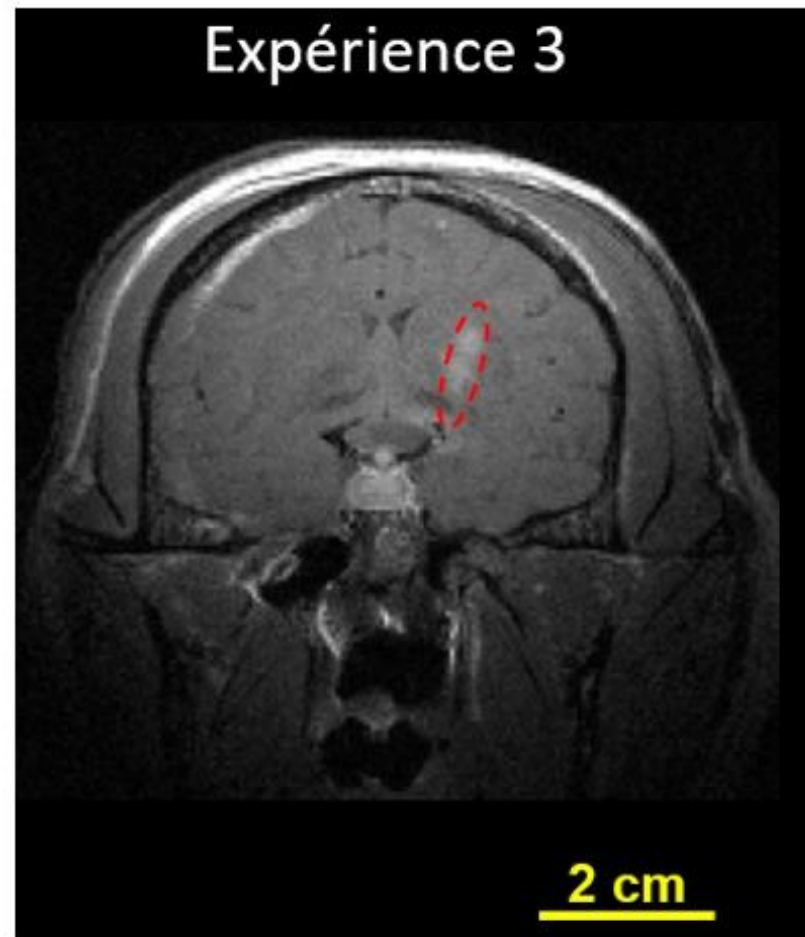
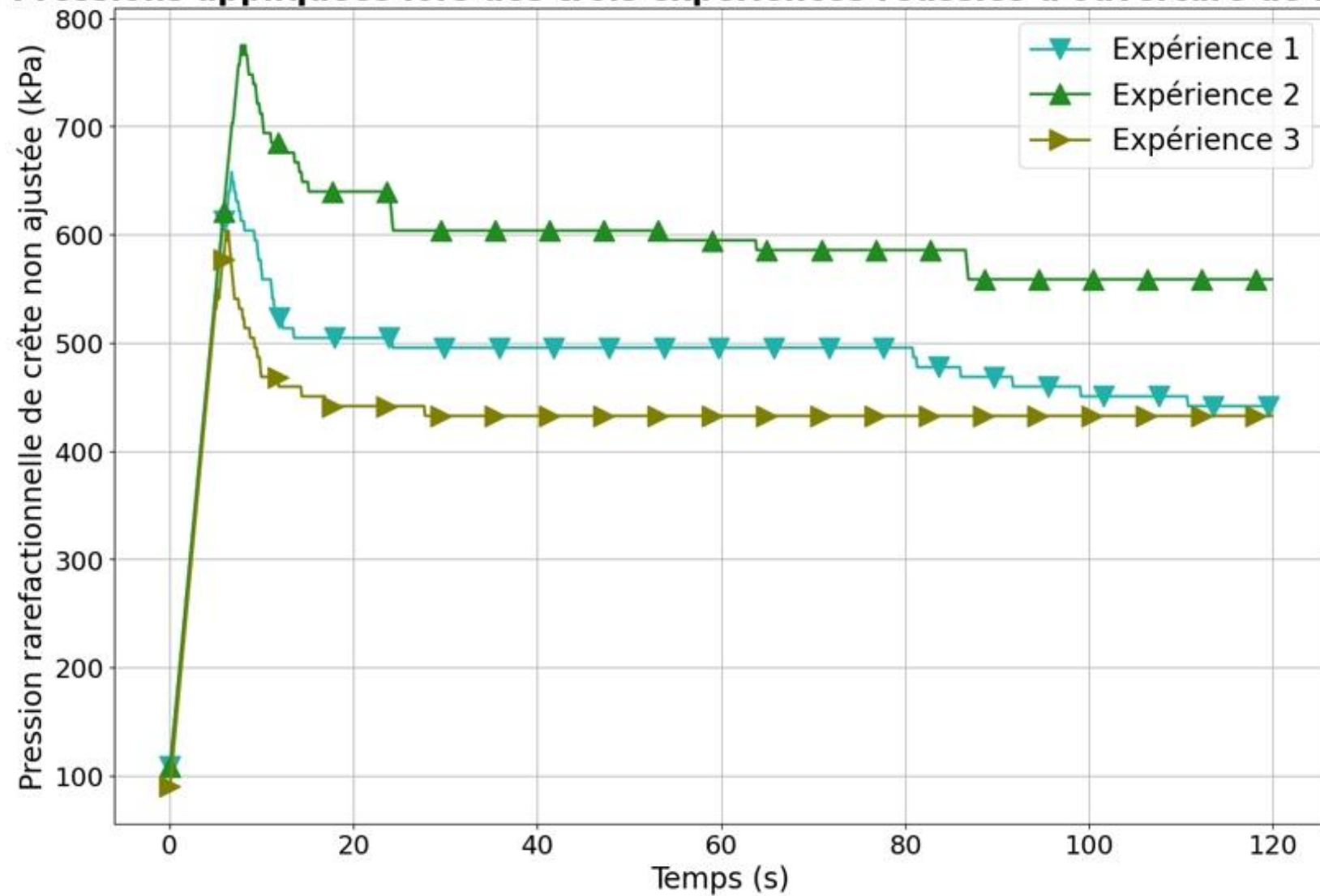
Spectres & régression du bruit large bande pour deux muscles d'épaisseurs différentes





Ouvertures réussies

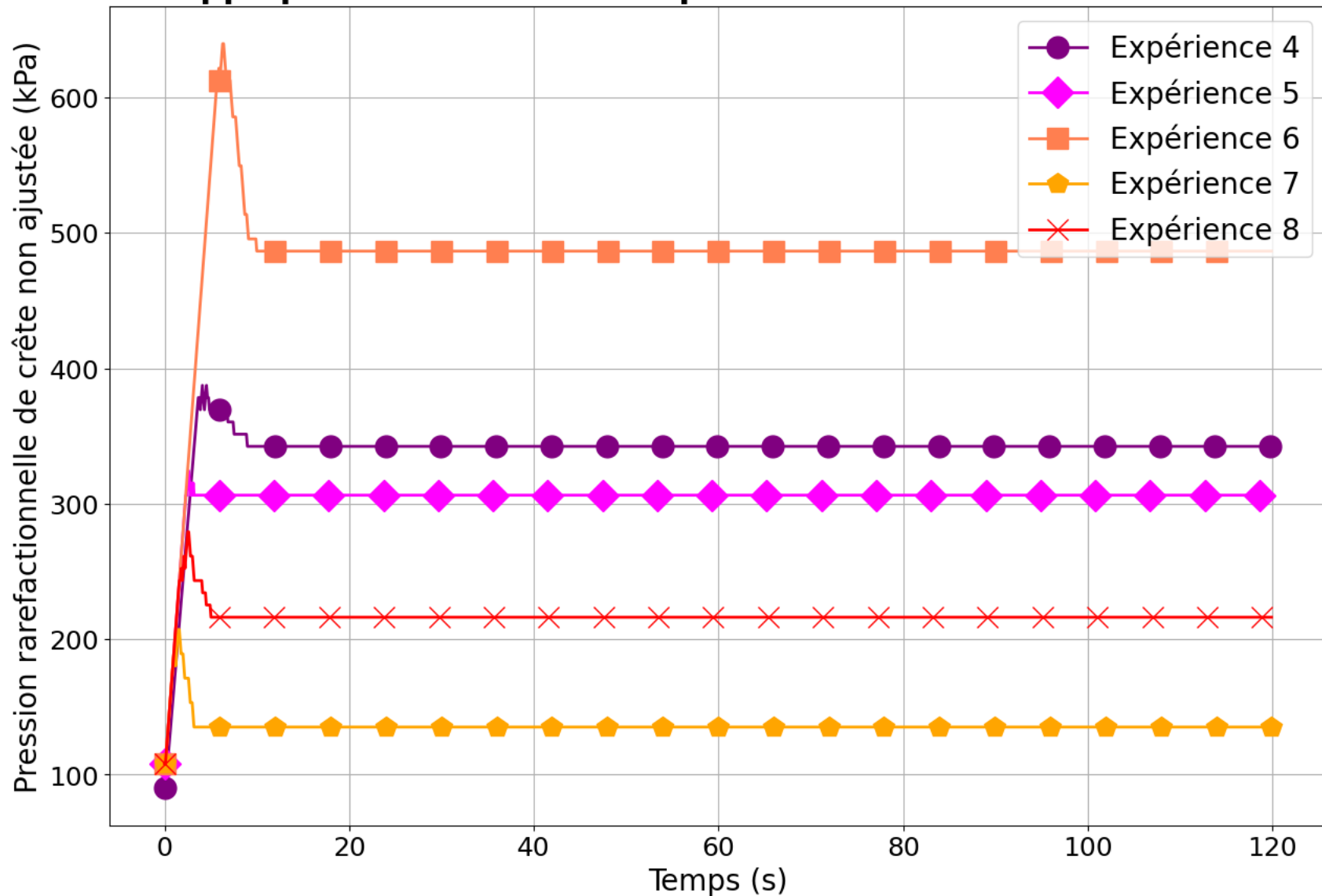
Pressions appliquées lors des trois expériences réussies d'ouverture de la BHE





Ouvertures échouées

Pressions appliquées lors des trois expériences échouées d'ouverture de la BHE

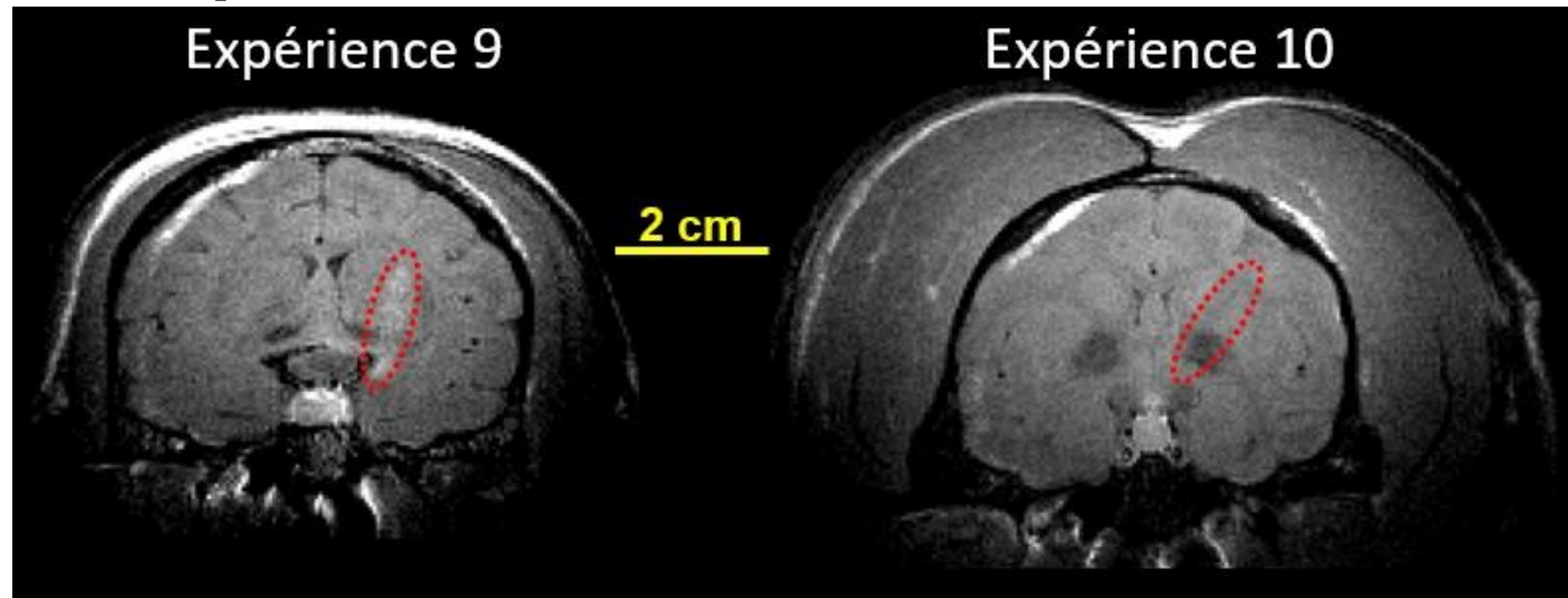






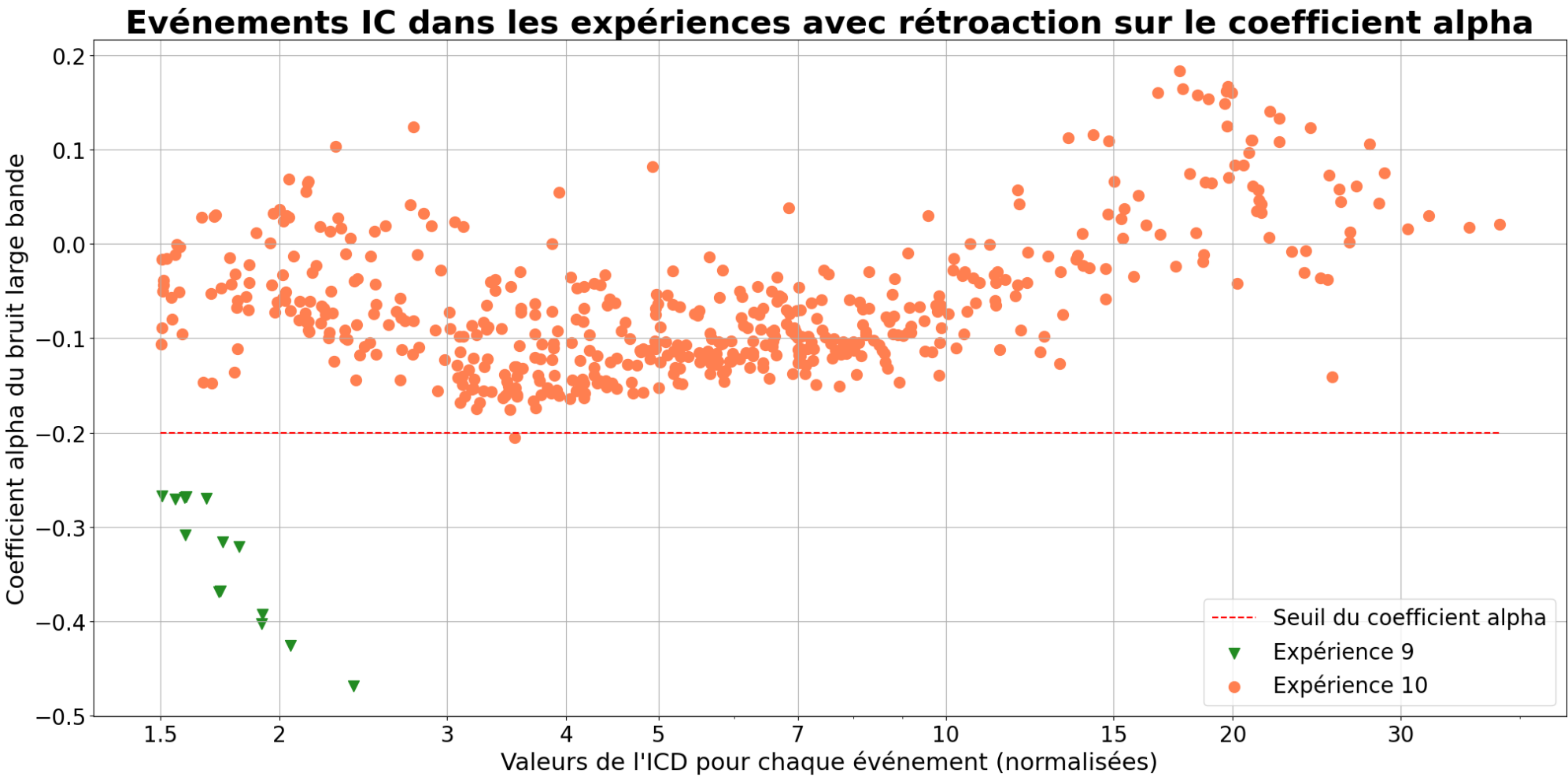
Ouvertures échouées

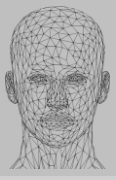
- Contrôle étendu au coefficient alpha
- 2 sujets avec 2 épaisseurs différentes
- Le contrôle au travers de muscles épais a échoué





Discrimination pour les expériences avec contrôle sur alpha



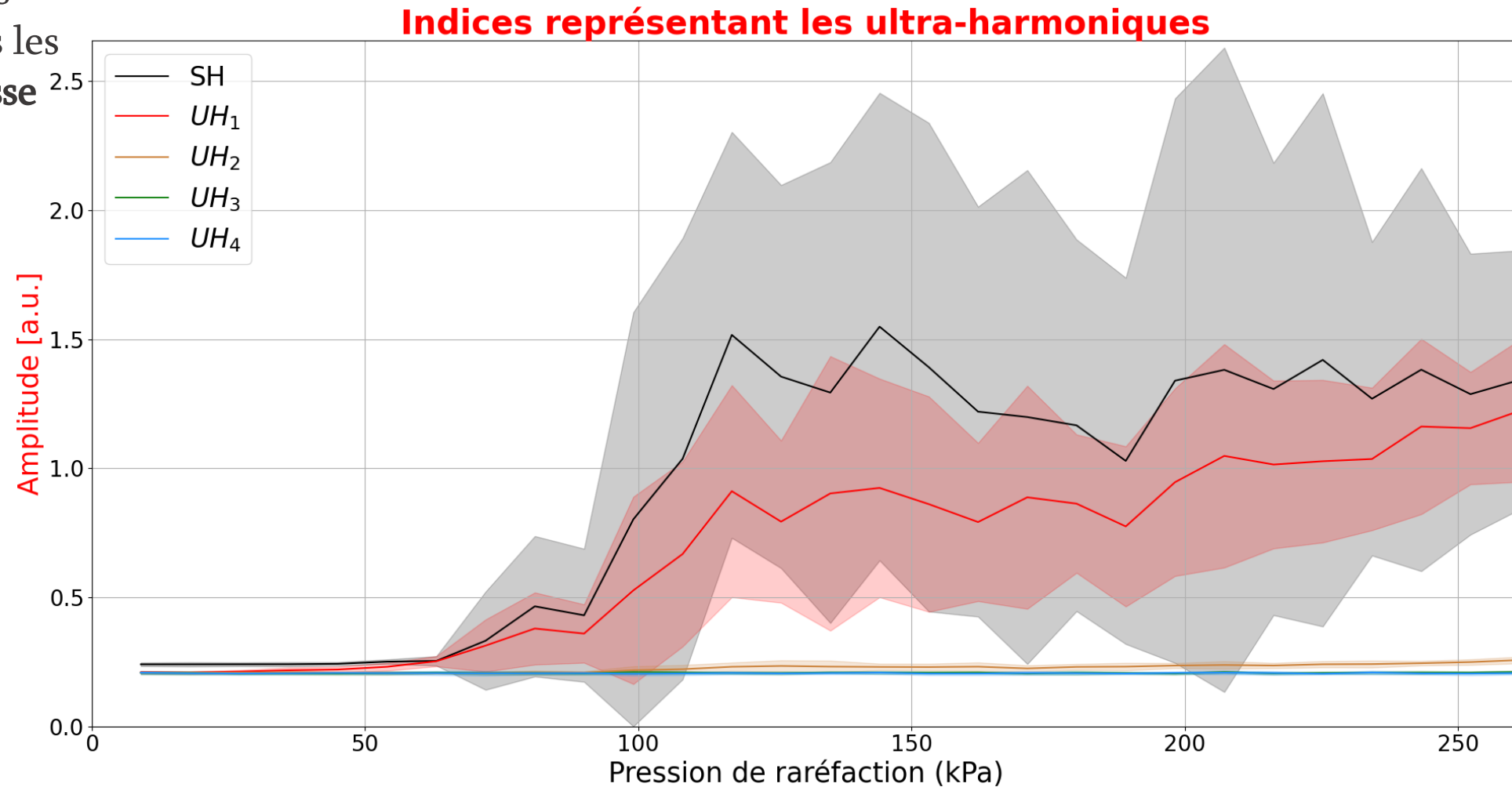


Annexes cliniques



Les fréquences les plus faibles sont à privilégier

Les composantes de chaque indice les plus observables sont celles aux fréquences les plus faibles : **caractère passe bas fréquentiel du crâne**

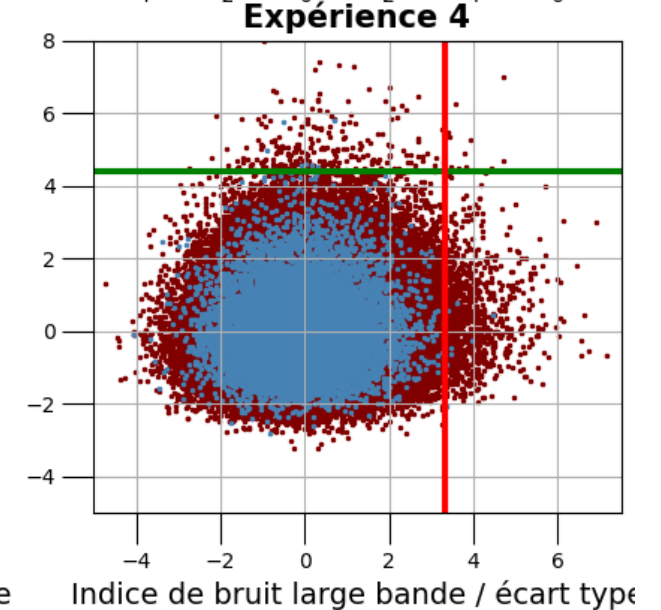
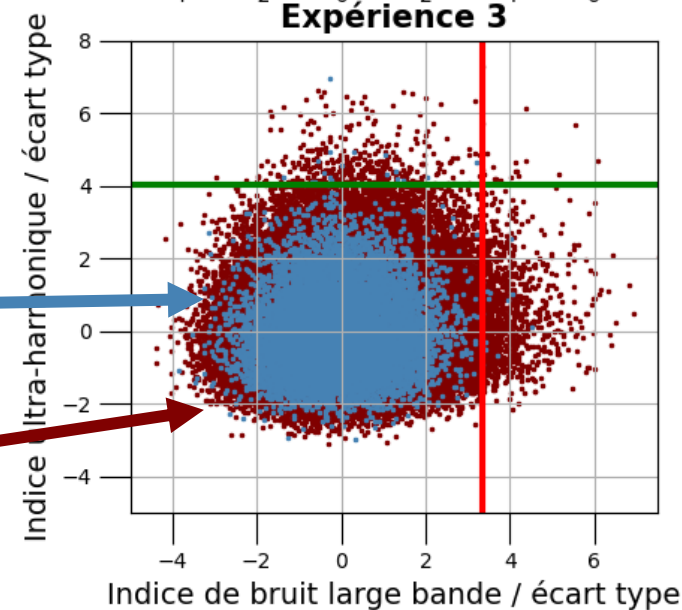
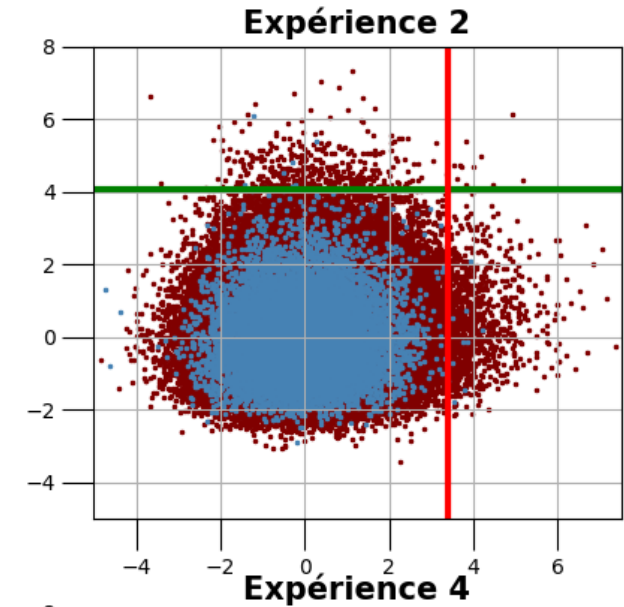
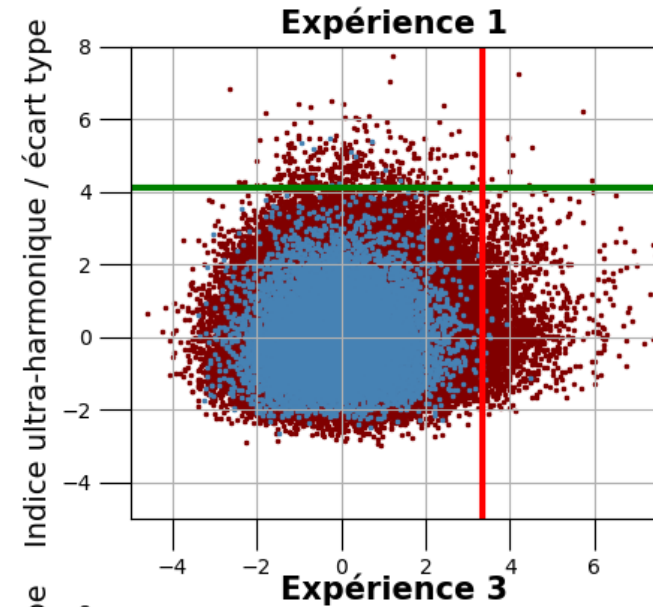


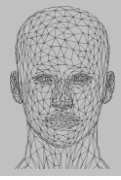


Nuages de points des différentes expériences

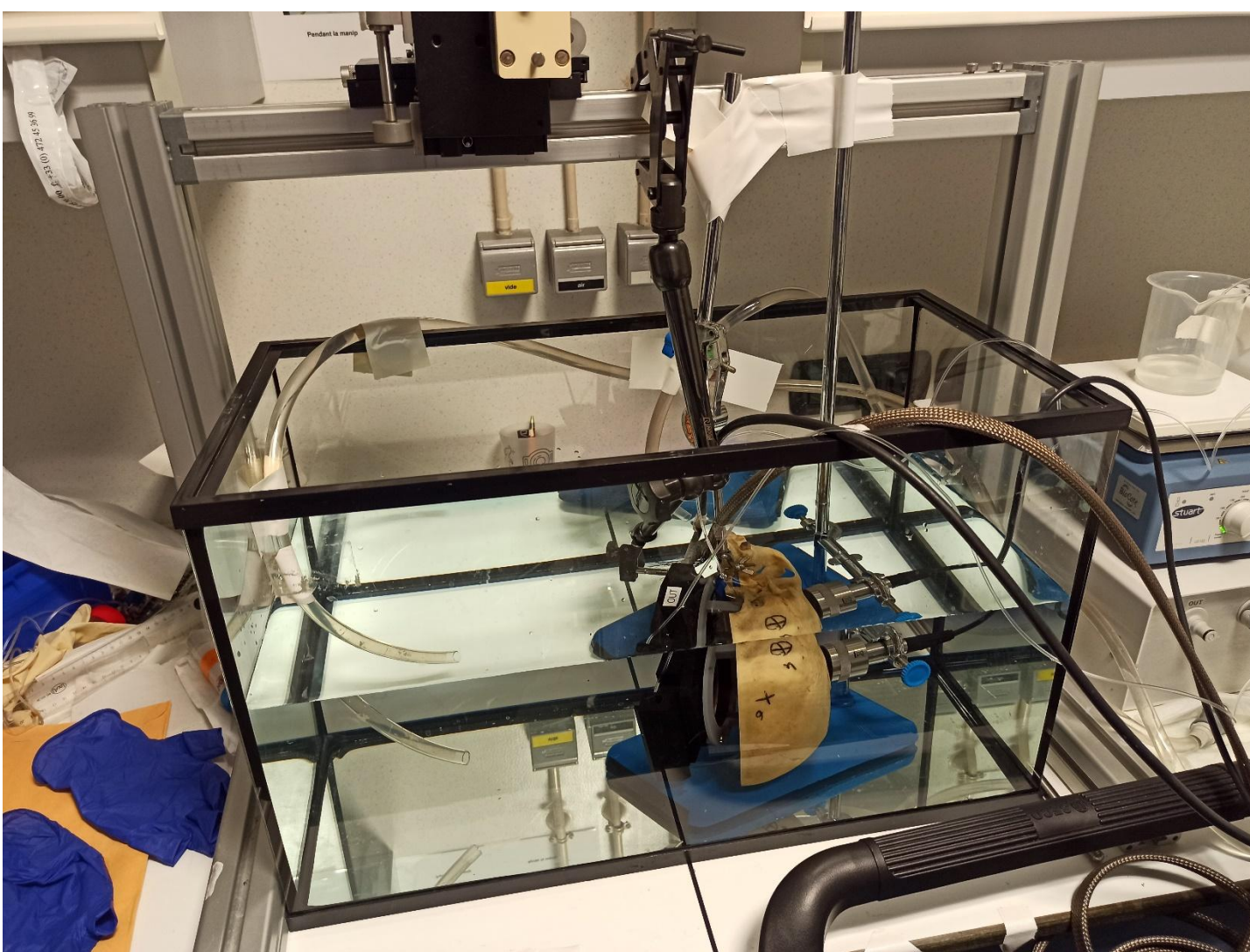
Tirs de référence

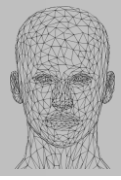
Tirs avec microbulles





Crâne





Transmission

