

THÈSE

PRÉSENTÉE À

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX I

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES PHYSIQUE ET DE L'INGÉNIEUR

Par Adam QUOTB

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : Électronique

Méthodes et systèmes pour la détection adaptative et temps réel d'activité dans les signaux biologiques

Soutenue le 12 octobre 2012

Après avis de :

M. David GUIRAUD	Directeur de recherche	INRIA Sophia-Antipolis
M. Serge WEBER	Professeur des universités	Université de Lorraine

Devant la commission d'examen formée de :

M. Yannick BORNAT	Maître de conférences	IPB Bordeaux	Co-directeur de thèse
M. David GUIRAUD	Directeur de recherche	INRIA Sophia-Antipolis	Rapporteur
M. Andreas HIERLEMANN	Professeur des universités	ETH Zürich	Examineur
M. Eric KERHERVÉ	Professeur des universités	IPB Bordeaux	Examineur
M. Matthieu RAOUX	Maître de conférences	Université Bordeaux 1	Examineur
Mme. Sylvie RENAUD	Professeur des universités	IPB Bordeaux	Directeur de thèse
M. Pierre VACHER	Chargé de recherche	INSERM Bordeaux	Examineur
M. Serge WEBER	Professeur des universités	Université de Lorraine	Rapporteur

A la mémoire de mon père.

Remerciements

Je remercie les professeurs Pascal Fouillat et Claude Pellet pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire IMS pendant la réalisation de ces travaux de thèse.

Mes remerciements vont également au professeur Sylvie Renaud pour m'avoir accepté dans son équipe et pour m'avoir encadré durant tout ce temps. Je retiendrais surtout son soutien dans toutes les situations bonnes ou mauvaises qui se sont présentées lors de cette thèse. Sa confiance, son sens de la pédagogie et son charisme seront des qualités qui me serviront de modèle dans ma future carrière.

Je tiens à remercier chaleureusement Yannick Bornat qui m'a permis, par ses conseils et son encadrement sans faille, de mener à bien cette thèse. De part son dévouement et sa conscience professionnelle, nous avons pu mener à bien notre projet de recherche. Je ne pense sincèrement pas avoir eu de meilleur encadrant que toi. Merci à toi.

Je remercie M. David Giraud et M. Serge Weber pour leurs lectures attentives et critiques du mémoire, en tant que rapporteurs de cette thèse.

Je remercie également M. Eric Kerhevé d'avoir accepté de présider ce jury de thèse.

Je tiens à remercier M. Andreas Hierlemann, M. Matthieu Raoux et M. Pierre Vacher pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail en acceptant de participer au jury de thèse.

Je tiens à avoir une pensée reconnaissante pour les gens appelés communément dans ce manuscrit "les biologistes" : Jochen, Matthieu, Anton, Fanny pour l'équipe provenant de L'IECB et Blaise et Sébastien pour l'équipe de l'INCLIA.

J'ai une pensée amicale à toutes les personnes appelées injustement les "vieux" et travaillant dans les équipes Elibio et AS2N : Noelle, Jean, Sylvain, Timothée et Gilles.

Et bien sûr, j'en ai une autre pour les "jeunes" regroupant les doctorants, ingénieurs et stagiaires qui ont partagé mon quotidien : Filippo, Jean-Baptiste, Matthieu, François, Adeline,

Billel, Vinh, Youssef, Florian, Gwendal, Théotime, Rémi, Olivia, Agostino, Nicolas, Guillaume.

Mes remerciements vont aussi à mon épouse Marion ainsi qu'à ma mère Catherine et mes frères Tarik et Maroine qui m'ont soutenu moralement durant ces trois ans.

Enfin je souhaiterais dédier ce manuscrit de thèse à la mémoire de mon père Kamal QUOTB, docteur en électronique, qui nous as quitté au tout début de cette thèse et dont le souvenir et l'amour restera à tout jamais gravé en moi. Merci à toi papa.

Résumé

Résumé

L'interaction entre la biologie et l'électronique est une discipline en pleine essor. De nombreux systèmes électroniques tentent de s'interconnecter avec des tissus ou des cellules vivantes afin de décoder l'information biologique. Le Potentiel d'action (PA) est au coeur de codage biologique et par conséquent il est nécessaire de pouvoir les repérer sur tout type de signal biologique. Par conséquent, nous étudions dans ce manuscrit la possibilité de concevoir un circuit électronique couplé à un système de microélectrodes capable d'effectuer une acquisition, une détection des PAs et un enregistrement des signaux biologiques. Que ce soit en milieu bruité ou non, nous considérons le taux de détection de PA et la contrainte de temps réel comme des notions primordiales et la consommation en silicium comme un prix à payer. Initialement développés pour l'étude de signaux neuronaux et pancréatiques, ces systèmes conviennent parfaitement pour d'autres type de cellules.

Mots clés

transformée en ondelettes, détection par seuillage, potentiel d'action, détection de spike, temps réel, Ilots de Langherans, FPGA, microélectrodes, ASIC.

Abstract

Abstract

Interaction between biology and electronic is in expansion. Many electronic systems are trying to interconnect with tissues or living cells to decode biological information. The Action Potential (AP) is the heart of biological coding and therefore it is necessary to be able to locate it from any type of biological signal. Therefore, we study in this manuscript the possibility of designing an electronic circuit coupled to microelectrodes capable of acquisition, detection of PAs and recording of biological signals. Whether or not in a noisy environment, we consider the detection rate of PA and the real time-computing constraint as an hard specification and silicon area as a price to pay. Initially developed for the study of neural signals and pancreatic, these systems are ideal for other types of cells.

Key words

wavelet transform, threshold detection, action potential, spike detection, real-time processing, Langherans Islets, FPGA, microelectrodes, ASIC.

Abréviations

ADC Analog to Digital Converter

ASIC Application-Specific Integrated Circuit

CONV Convolution Based Template Matching

CWT Continuous Wavelet Transform

DBS Deep Brain Stimulation

DSP Digital Signal Processor

DWT Discrete Wavelet Transform

ECG Electrocardiogramme

ELIBIO ELectronique en Interaction avec la BIOlogie

EMG Electromyogramme

ESYCOM laboratoire d'Electronique, Systèmes de Communication et Microsystèmes

FPGA Field-Programmable Gate Array

FT Fourier Transform

FWHM Full Width at Half Maximum

GBF Générateur Basse Fréquence

HY-BIOPACS HYbrid BIOelectronic endocrine PAnCreas Sensors

HYRENE HYbridation de REseaux de NEurones pour l'exploration de fonctions de réhabilitation

IECB Institut Européen de Chimie de Bordeaux

IMS Laboratoire de l'Intégration du Matériau au Système
INCIA Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine
IP Intellectual Property
LFP Local Field Potential
LNA Low Noise Amplifier
LUT Look UP Table
MCS Multi Channel Systems
MEA Multi Electrode Array
MEMS Micro Electro Chemical Sensor
MRA Multi Resolution Analysis
NST Noyau Sous Thalamique
PA Potentiel d'Action
PRES Pôle de recherche et d'enseignement supérieur
RAM Random Access Memory
RNA Réseaux de Neurones Artificiels
ROM Read-Only Memory
SNC Système Nerveux Central
SNR Signal to Noise Ratio
SSD Sum of Square Difference
STFT Short Term Fourier Transform
SWT Stationary Wavelet Transform
TEO Teager Energy Operator
UART Universal Asynchronous Receiver Transmitter

Table des matières

Introduction	xiii
I Systèmes de microélectrodes - Au coeur des interactions entre l'électronique et le vivant	1
1 Le vivant	1
1.1 Le système nerveux central (SNC)	3
1.1.1 Anatomie du SNC	3
1.1.2 La synapse ou la transmission du message nerveux	4
1.1.3 Le neurone	5
1.2 La régulation de la glycémie	7
1.3 Le diabète	9
2 L'interface Homme-Machine	9
2.1 Contexte du projet de recherche	10
2.1.1 HYRENE	10
2.1.2 HY-BIOPACS	11
2.2 Les interfaces bioélectroniques	13
2.2.1 Interfaces invasives	13
2.2.2 Interfaces non-invasives.	16
2.2.3 Exemple de préparation de cellules pancréatiques primaires sur MEAs non-invasifs	17
2.2.4 Les interfaces et le bruit	20
3 L'électronique et la détection de PA par seuillage	23

Table des matières

3.1	Méthode par seuillage brut	24
3.1.1	Le seuil fixe	24
3.1.2	Le seuil adaptatif	25
3.2	Méthode par transformée puis par seuillage	29
II	Structure du système	33
1	Pré-traitement : La transformée en ondelettes ou la face cachée de la transformée de Fourier ?	33
1.1	L'analyse de Fourier	35
1.2	La transformée en ondelette continue : Au coeur d'une analyse multi-résolution	37
1.3	Transformée en ondelette discrète	40
2	Stratégie de détection	43
3	Evaluation de la structure du système	47
3.1	Matériels et méthodes	48
3.2	Résultats	50
III	Au coeur de l'implémentation matérielle	57
1	Principes de fonctionnement d'un FPGA	57
1.1	Outils utilisés	57
1.2	Contexte de l'implémentation du système sur FPGA	58
2	Module de calcul de la SWT	61
2.1	Cahier des charges	61
2.2	Structure du calcul de la transformée en ondelettes stationnaire (SWT)	62
2.3	Procédures et résultats de vérification fonctionnelle	68
3	Module de seuillage	70
3.1	Cahier des charges	70
3.2	Structure du module de seuillage	71
3.3	Procédures et résultats de vérification fonctionnelle	75
4	Modules d'acquisition	77
4.1	L'acquisition <i>off-line</i> : Système de vérification fonctionnelle	77
4.2	L'acquisition <i>on-line</i>	79
5	Interfaces utilisateurs	80
5.1	Paramétrage des données	80
5.2	La visualisation des données	81

5.3	Le stockage sur carte SD	81
IV Expériences et résultats		83
1	NeuroBetaMed_Rs232	83
1.1	Présentation	83
1.2	Résultats	85
1.3	Discussion et perspectives	87
2	NeuroBetaMed	90
2.1	Présentation	90
2.2	Résultats	91
2.3	Discussion et perspectives	96
3	NeuroBetaMed_XL	96
3.1	Présentation	96
3.2	Résultats	98
3.3	Discussion et perspectives	106
Conclusion générale		107
Annexe 1		111
1	Coefficients des filtres représentant les ondelettes mères	111
2	Coefficients du filtre de l'ondelette haar pour la SWT	112
Références bibliographiques de l'auteur		113
Références bibliographiques		115

Table des matières

Introduction

L'interaction entre l'électronique et le vivant est une notion faisant penser instinctivement au domaine de la science-fiction. Elle éveille en nous un imaginaire dans lequel les Hommes sont bardés d'implants destinés à l'amélioration de leur qualité de vie. Aujourd'hui, la réalité rejoint petit à petit la science-fiction, et déjà sans s'en rendre compte, de nombreux implants électroniques sont largement utilisés en vue d'améliorer notre vie (pacemaker, prothèses auditives etc.). Afin de concevoir les prochaines générations d'implants, de nombreuses équipes de recherche dont Elibio, notre équipe d'accueil pour nos travaux de recherches, s'intéressent à la compréhension et l'analyse des signaux électriques transitant au sein du corps Humain. En effet, un décodage de l'information provenant des communications électriques des cellules vivantes pourrait amorcer l'avènement de nouvelles générations de prothèses destinées à pallier des handicaps tels que la cécité, la paralysie ou le diabète. Les scientifiques du domaine du vivant s'accordent sur le fait qu'une étape importante dans ce processus est la mesure des échanges d'influx entre les cellules, que l'on appelle Potentiel d'Action (PA). En retour, après décodage de l'information des PAs, il serait possible de stimuler électriquement ou chimiquement ces mêmes cellules ou d'autres. Cependant, les résultats de ces méthodes de détection ne sont pas encore probants et des avancées significatives peuvent être encore réalisées pour reproduire ou pallier une fonction donnée.

Il est difficile de mesurer de façon précise ces influx électriques sans avoir recours à des processus complexes. Par conséquent, l'idée est apparue de créer des implants mesurant l'activité électrique directement au contact même d'une ou plusieurs cellules vivantes. La principale tâche de ces implants sera de mesurer, d'enregistrer, de détecter et de traiter les PAs en perturbant au minimum les cellules vivantes. Une première étape est de proposer un système d'acquisition du signal permettant d'enregistrer l'activité électrique de plusieurs centaines de cellules à l'aide de microélectrodes. Les électrodes seront couplées à un circuit électronique traitant et transmettant le signal afin de commander un module de contrôle externe (pompe à insuline) ou

interne (circuit de stimulation électrique). Notre objectif à terme est de réaliser un tel système dans le cadre de collaborations entre Elibio et des unités de recherche en biologie. Le contexte de ce projet est donc interdisciplinaire avec une forte implication des biologistes et médecins dans l'établissement du cahier des charges et la validation de notre système.

La mesure du signal biologique par le biais des microélectrodes est donc un point crucial de notre étude car le reste de l'analyse dépend entièrement de cette acquisition. Si cette mesure est mal effectuée, qu'elle interfère ou pire encore perturbe le signal acquis, les calculs situés en aval seront erronés. Par conséquent, une attention toute particulière sera donnée au choix des méthodes d'acquisition du signal. L'enregistrement des données brutes mais aussi des données ayant servi à l'analyse du signal nous permettra de valider à posteriori, les différentes analyses effectuées. Dans un même temps, ces données seront utilisées pour compléter des bases de données partagées avec d'autres chercheurs.

Dans ce manuscrit, nous proposons donc un moyen fiable de mesurer, d'enregistrer et de traiter un signal contenant des PAs afin d'en déduire le message biologique. Le but sera double : d'une part notre circuit complètera les fonctions proposées par les différents logiciels d'acquisition de signaux biologiques qu'ils véhiculent ; d'autre part, il sera, intégrable sur silicium afin de proposer aux biologistes des applications autonomes et embarquées. Par conséquent, les contraintes temps réel ainsi que la consommation en ressources sont deux éléments sur lesquels notre attention sera portée. De plus, étant dédié à l'étude de signaux biologiques en général, le circuit sera reconfigurable à souhait afin de s'adapter à tout type de signal. Enfin, pour des études à long terme effectuées par des biologistes, nous développerons une interface utilisateur qui devra être aussi intuitive que possible, afin de faciliter l'utilisation du système électronique par des usagers non avertis à cette discipline (biologistes).

Cet ouvrage s'articule en quatre chapitres de description des travaux réalisés, après un premier chapitre d'entrée en matière sur le sujet.

Plus particulièrement, le premier chapitre s'intéresse aux systèmes de microélectrodes qui constituent le coeur des interactions entre l'électronique et le vivant. Il présente également les notions minimales de biologie, nécessaires à la compréhension de la problématique à laquelle nous avons été confrontée. Une partie du chapitre est consacrée à l'explication des phénomènes biologiques au sein du système nerveux central et du pancréas. Ensuite nous avons introduit les différents types d'interfaces permettant d'extraire les signaux biologiques, avant d'expliquer le rôle de l'électronique dans le traitement du signal extrait des microélectrodes, en particulier les différentes méthodes d'extraction des PAs.

Dans un second chapitre, nous nous intéressons et détaillons les différentes structures retenues pour effectuer la détection des PAs. Au-delà de la simple présentation, nous nous attachons

à identifier une structure de détection présentant les meilleures caractéristiques en vue d'une implémentation matérielle. Pour cela, nous avons simulé sous MATLAB les différents modèles existants afin d'en retenir un ayant un taux de détection de PAs correct en milieu bruité mais aussi une implémentation matérielle optimale. Enfin, nous présentons l'environnement nécessaire à l'utilisation du système de détection par un utilisateur extérieur.

En troisième partie, nous nous plaçons au coeur de l'implémentation matérielle du système. Ce chapitre est pour nous l'occasion de détailler le fonctionnement du circuit de détection ainsi que les différentes technologies que nous avons utilisé pour le réaliser. Nous nous sommes notamment attachés à être particulièrement vigilant sur certaines caractéristiques : le temps réel, l'occupation spatiale et mémoire, les interfaces utilisateurs et le coût matériel de l'implémentation.

Enfin, dans un quatrième et dernier chapitre, nous présentons les quatre versions du système ayant été conçues au cours de cette thèse. Nous nous attachons à les détailler et à présenter les résultats de deux types de tests effectués avec la validation permanente des biologistes ; à partir d'enregistrement de signaux biologiques et sur tissus vivants en conditions expérimentales.

La conclusion de cet ouvrage présentera une évaluation du travail restant afin d'exploiter au mieux la future génération de système de détection dont nous avons déjà commencé la réalisation. Enfin nous pourrons nous laisser aller à une discussion sur les perspectives qu'ouvrent ces travaux.

Chapitre I

Systèmes de microélectrodes - Au coeur des interactions entre l'électronique et le vivant

Le principal objectif de cette thèse est la conception d'un système d'acquisition et de détection de signaux biologiques. Ceci confère à notre sujet un caractère interdisciplinaire nous poussant à présenter d'une part la partie électronique liée à notre expertise fondamentale et d'autre part, la partie biologie du vivant abordée grâce à la littérature ou aux échanges avec des biologistes et des médecins. Ainsi, en fonction des caractéristiques et des besoins du vivant, l'électronique s'adapte et non l'inverse. D'où l'intérêt de bien cerner les caractéristiques physiologiques, fonctionnelles et structurelles des différents éléments du vivant que nous allons manipuler avant de les interfacier avec l'électronique.

Par conséquent, nous nous intéresserons dans ce chapitre à une caractérisation du vivant d'un point de vue anatomique, physiologique et électrique dans le strict cadre des applications que nous visons. Nous illustrerons ensuite la question des interfaces bioélectroniques avec des exemples concrets de signaux biologiques provenant de ces interfaces. Enfin, nous aborderons l'aspect électronique et système de nos travaux avec la présentation des principales structures d'acquisition et de détection de signaux biologiques que nous avons conçus.

1 Le vivant

Parler du "vivant" est un concept général puisque ce terme recouvre les animaux, les plantes etc... C'est pourquoi dans cette partie, nous allons préciser notre pensée en détaillant les différentes "matières" vivantes sur lesquelles nous souhaitons mesurer des signaux électriques biologiques. A titre d'exemple, la figure [I.1](#) propose un aperçu de la localisation et de la plage de tension/fréquence de certains signaux électriques mesurables dans le corps humain.

On peut noter ainsi l'existence de plusieurs types de signaux dont :

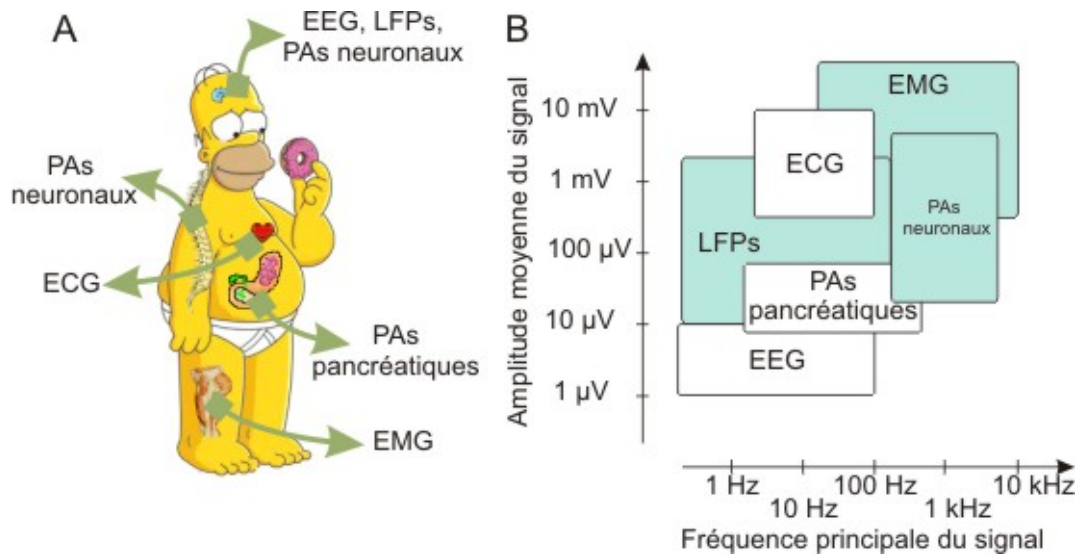


Figure I.1 – A) Localisation des principaux signaux électriques du corps humain. ECG (électrocardiogrammes), EMG (électromyogrammes), PAs (potentiels d'actions), LFPs (local field potentials)
 B) Plage de tension/fréquence des principaux signaux électriques du corps humain.

- les (Electrocardiogrammes) qui sont une représentation graphique du potentiel électrique qui commande l'activité musculaire du cœur.
- les EMG (Electromyogrammes) qui représentent l'activité électrique des muscles.
- les PAs (Potentiels d'action) neuronaux et LFPs (Local field potentials) qui correspondent à l'activité électrique des cellules nerveuses.
- les PAs pancréatiques qui correspondent à l'activité électrique des cellules du pancréas.

Ces signaux représentent une activité électrique provenant de cellules ou d'organes représentative des nombreuses fonctionnalités du corps humain. Selon les méthodes d'enregistrement ou la nature même de l'objet vivant étudié, l'activité électrique d'une cellule vivante diffère. Le signal biologique peut être composé de PA isolés ou presque (mesure d'un seul ou un petit groupe de neurone), composé d'un très grand nombre de sources plutôt asynchrones (EMG, LFP, EEG) ou composé de PAs synchronisés souvent nommés "composés" (ECG, PAs pancréatique et neuronaux).

1.1 Le système nerveux central (SNC)

"Du cerveau et du cerveau seul naissent nos plaisirs, nos joies, nos rires et plaisanteries, ainsi que nos peines, nos douleurs et nos chagrins" Hippocrate 400 av J.C.

Contrairement à la pensée antique où le cœur était le centre de toutes les émotions, réactions et pensées humaine, Hippocrate le premier, sans avoir démontré le fonctionnement du SNC en avait compris tout son sens et son utilité.

1.1.1 Anatomie du SNC

Le SNC est la partie centrale et primordiale de toute activité animale ; d'un point de vue anatomique il ne se résout pas seulement au cerveau. Il se compose de l'encéphale (cerveau, cervelet et tronc cérébral) ainsi que de la moelle épinière et de ses terminaisons nerveuses (dont les terminaisons motrices) plongés dans le liquide céphalorachidien (figure I.2). Le SNC est relié au reste du corps par le SNP (système nerveux périphérique) dont la fonction principale est de faire circuler l'information entre les organes et le SNC.

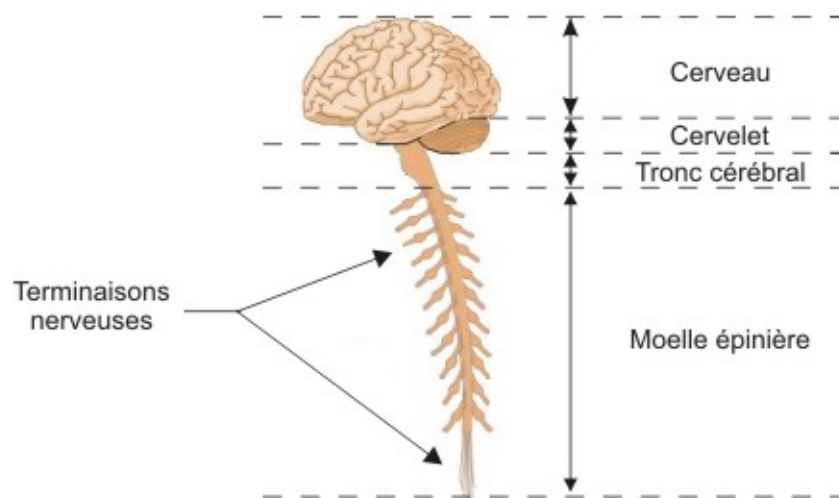


Figure I.2 – Anatomie du SNC

Le cerveau possède deux hémisphères entourés d'une couche extérieure appelé cortex cérébral. Le tronc cérébral est une zone de transit, d'échange et de relais entre le cerveau et la moelle épinière. Il est le carrefour entre les voies de communication ascendantes (moelle \Rightarrow cortex) et descendantes (cortex \Rightarrow moelle). Les premières voies ont la possibilité de s'enrichir, en

passant par le tronc cérébral, des fibres qui proviennent des noyaux sensitifs des nerfs crâniens. Les secondes voies s'enrichissent des voies extrapyramidales c'est-à-dire de la motricité non volontaire. La moelle épinière est quant à elle le lieu de transmission des messages nerveux entre le cerveau et le reste du corps par le biais de ses terminaisons nerveuses. Elle contient aussi des circuits neuronaux indépendants qui contrôlent un certain nombre de réflexes essentiels à la vie (respiration, battement du coeur *etc.*).

1.1.2 La synapse ou la transmission du message nerveux

Sa capacité de déduction et d'apprentissage a fait de l'Homme une fascinante machine dont l'atout majeur est son système neuronal. En effet, il relaye le message nerveux dans tout le SNC et plus particulièrement dans le cerveau. A la base de ce système neuronal se trouvent des neurones interconnectés ou non (phase d'apprentissage) représentant les entités essentielles dans la "symphonie" du SNC. Ils forment un réseau pouvant aller jusqu'à cent mille milliards d'individus et nous permettent de réaliser la totalité de nos activités conscientes ou non ([Williams and Herrup \[1988\]](#)). Les réseaux se créent grâce à la propriété qu'ont les neurones à se connecter à d'autres via les dendrites, les axones et les synapses. La synapse est une excroissance d'un neurone et correspond à la zone de contact fonctionnelle entre deux neurones (neurone post et présynaptique). Son rôle est de transmettre l'information soit électriquement dans le cas d'une synapse électrique soit par le biais de neurotransmetteur dans le cas d'une synapse chimique (figure [I.3](#)).

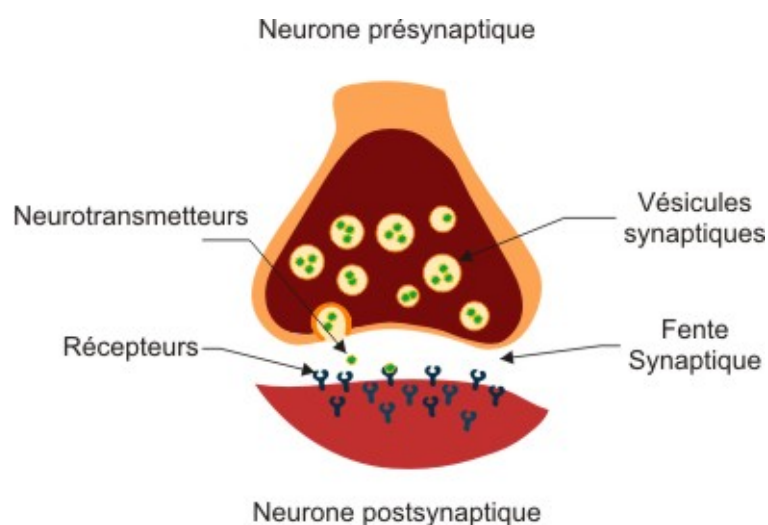


Figure I.3 – La synapse. Figure inspirée de [[Tritsch et al., 1998](#)]

1.1.3 Le neurone

D'un point de vue physiologique plusieurs types de neurone existent selon la fonction ou la forme spatiale de ce dernier ; la figure I.4 montre un neurone typique et décrit ses principales composantes. Chaque neurone est délimité par une membrane cellulaire qui le protège et permet de réguler les flux entrants et sortants d'électrolytes (ions sodium (Na^+) et potassium (K^+) entre autres). Au repos, les ions sodium sont plus concentrés à l'extérieur de la membrane alors que les ions potassium sont plus concentrés à l'intérieur de la membrane. Lors d'une stimulation de cette dernière, les ions sodium la traversent au voisinage de la stimulation et se propagent le long de la membrane. Ces flux de part et d'autre de la membrane engendrent une activité électrique dont le potentiel d'action (PA) est la base. La partie centrale du neurone, appelée soma, collecte les stimulations nerveuses en provenance des synapses, via ses dendrites. Lorsque la stimulation dépasse un certain seuil, le soma génère un potentiel d'action qui va se propager le long de l'axone protégé généralement par une gaine de myéline jusqu'aux terminaisons synaptiques qui assurent la connexion entre les neurones ([Tritsch et al., 1998]).

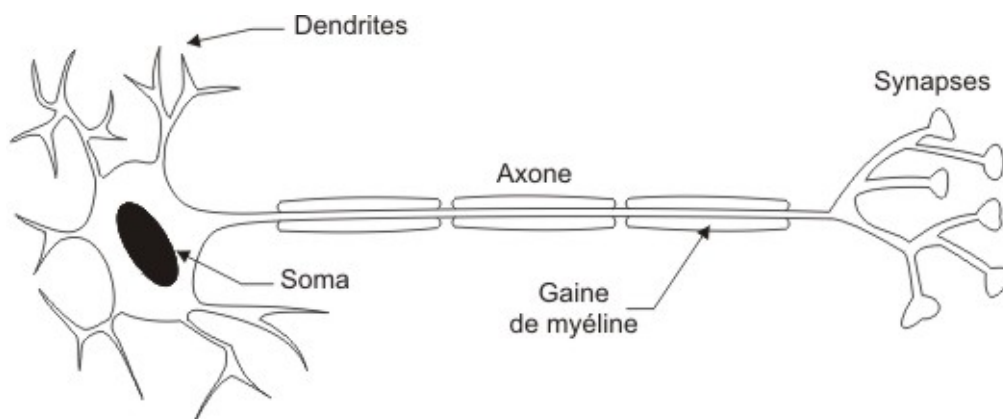


Figure I.4 – Le neurone. Figure inspirée de Bornat [2006]

Le PA correspond à une inversion de polarité de la membrane du neurone, maintenue au repos (absence de PA) à un potentiel fixe par rapport au milieu extérieur à la cellule. Comme le montre la figure I.5, un PA peut être divisé en quatre périodes. Les périodes ① et ④ correspondent à des périodes de repos. Durant ②, le potentiel de membrane se dépolarise et atteint, en approximativement 1 ms, une valeur positive de l'ordre de la dizaine de mV. Dans un troisième temps ③, la membrane s'hyperpolarise, descendant en dessous de son potentiel de repos. Pendant cette période le neurone ne peut pas émettre d'autres potentiels d'action, d'où le nom de période réfractaire. Bien que la forme du potentiel d'action varie d'un neurone à un autre,

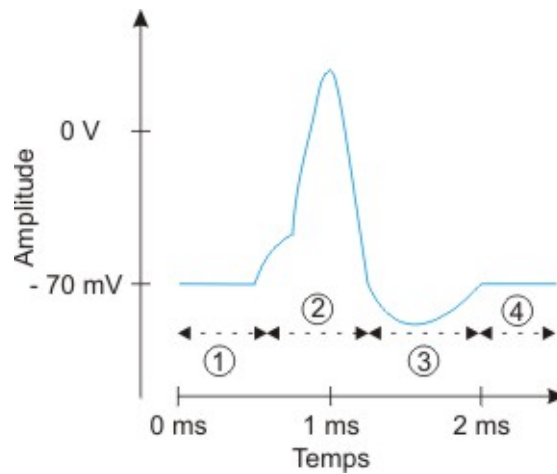


Figure I.5 – Le potentiel d'action : ① et ④ : périodes de repos, ② période de dépolarisation et ③ : période réfractaire

les quatre grandes périodes décrites précédemment sont conservées.

Comme la majorité des signaux biologiques, le signal neuronal est considéré comme un signal non stationnaire [Al ani, 1998]. En d'autres termes, le contenu fréquentiel du signal neuronal change au cours du temps. Sur un signal neuronal de 1 seconde, on peut avoir des PAs à une fréquence f_0 sur l'intervalle 0-100ms, f_1 sur l'intervalle 100-600ms et f_2 sur l'intervalle 600-1000ms. Ainsi dans le domaine temps-fréquence, un signal neuronal composé de PAs se caractérise par des composantes à haute fréquence pour des courtes durées et des composantes de basse fréquence pour de longues durées ([Rangayyan, 2002], [Finn and Lopresti, 2003]).

Selon la manière dont les PAs sont mesurés (électrode, filtrage, amplification *etc.*), ils peuvent être bruités par ce que l'on appelle des LFPs (Local Field Potentials) issus du tissu nerveux. Ces LFPs correspondent à la mesure cumulée d'informations simultanées d'un groupe de neurones et ne concernent donc plus un neurone de manière individuelle. Ils ne sont donc pas considérés comme étant du bruit, ils sont la conséquence de l'activité synaptique des réseaux de neurones et méritent d'être observés et étudiés comme le font [Perelman and Ginosar, 2007] et [Ranade et al., 2009].

Le fonctionnement électrique des neurones et des réseaux peut être modélisé par des modèles mathématiques permettant aux chercheurs de mimer l'activité biologique. Ainsi l'ingénierie neuromorphique est largement répandue dans les labos et des réseaux de neurones plus ou moins réalistes ont été déjà réalisés ([Gerstner and Kistler, 2002], [Shih-Chii and Douglas, 2004] et [Fieres et al., 2004]).

1.2 La régulation de la glycémie

Le pancréas est un organe abdominal situé derrière l'estomac, devant et au-dessus des reins. Il a pour particularité de sécréter des enzymes à destination du tube digestif (fonction exocrine) contribuant à la digestion et à la synthèse des hormones (insuline, glucagon, somatostatine, polypeptide pancréatique) libérées dans la circulation sanguine (fonction endocrine). Cette fonction endocrine est dévolue à des îlots de cellules spéciales disséminés au sein du pancréas, les îlots de Langerhans composés de différents types de cellules :

- Les cellules alpha sécrétant du glucagon.
- Les cellules bêta sécrétant de l'insuline.
- Les cellules delta sécrétant de la somatostatine.
- Les cellules sécrétant du polypeptide pancréatique.

Les actions de la somatostatine et du polypeptide pancréatique sont encore mal connues. Le glucagon et l'insuline sont des hormones antagonistes nécessaires à la régulation de la glycémie, le glucagon provoque en outre une augmentation de la glycémie. L'insuline est quant à elle une hormone essentielle sécrétée par le pancréas par le biais de ses cellules bêta-pancréatiques ou cellules "bêta". C'est grâce aux propriétés hypoglycémiantes de l'insuline que le pancréas exerce sa fonction endocrine essentielle : la régulation du métabolisme du sucre. L'élévation de la glycémie est un des facteurs primordiaux de la sécrétion d'insuline mais certaines hormones ainsi que des facteurs nerveux peuvent aussi influencer sur la délivrance d'insuline par l'organisme ([Gromada et al., 2004], [De Marinis et al., 2010]). Par conséquent, les cellules bêta ne sont donc pas seulement de simples capteurs de glucose mais elles prennent aussi en compte l'effet d'autres nutriments ou hormones afin de fonctionner. C'est ainsi que selon le niveau de glucose et d'hormone, la cellule bêta va subir une dépolarisation plus ou moins forte afin de procéder à la fusion des cellules contenant l'insuline avec la membrane cellulaire (exocytose) et ainsi libérer l'insuline dans le sang. Le fonctionnement simplifié du processus de synthèse d'insuline par la cellule bêta est présenté dans la figure I.6. Le transporteur de glucose de type 2 (GLUT2) reçoit le glucose afin de procéder à sa phosphorylation glycolique (transformation du glucose en glucose 6-phosphate grâce à une enzyme catalysatrice : la glucokinase) entraînant une élévation du ratio ATP/ADP (ATP : enzyme reflétant l'énergie nécessaire aux réactions chimiques ADP : enzyme reflétant l'énergie libéré lors d'une réaction chimique). Cette élévation va désactiver les canaux ioniques de potassium (K^+), engendrant une dépolarisation de la membrane et causant une ouverture des canaux ioniques calcium (Ca^{2+}) entrant dans la cellule ([Best et al., 2010]). L'élévation du taux de calcium conduit à la réaction d'exocytose libérant l'insuline dans l'organisme (figure I.6). D'un point de vue électrique, de même que pour les neurones,

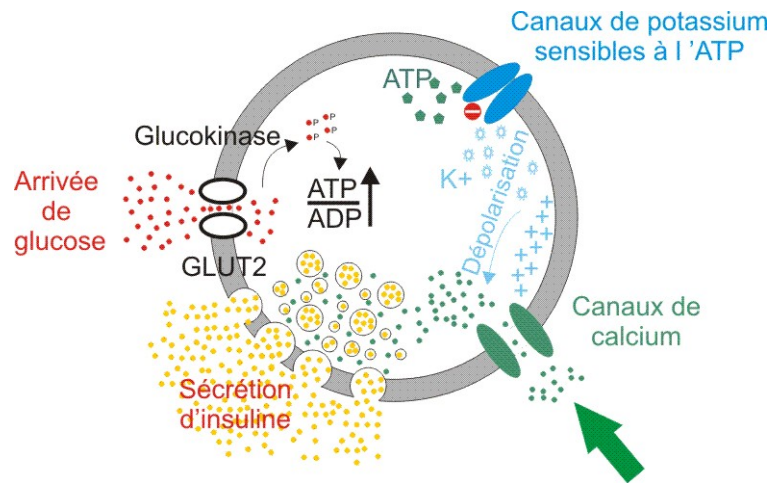


Figure I.6 – Fonctionnement de la cellule bêta et cycle de la sécrétion d'insuline

la dépolarisation de la membrane correspond à un PA dont la forme est semblable à celle des neurones, mais dont la durée et l'amplitude varient respectivement entre 10ms/40ms et quelque mV. Selon la méthode d'enregistrement du signal pancréatique et le niveau d'activité des cellules, les signal pancréatique peut être, comme un signal neuronal, un signal unitaire (un seul PA) ou composé (plusieurs PAs provenant de plusieurs cellules plus ou moins éloignées des électrodes et qui dépolarisent en même temps). La figure I.7 propose une forme d'un PA unitaire pancréatique. Comme un signal neuronal, un signal pancréatique peut être composé de PAs unitaires, composés ou modulés en amplitude.

Certains chercheurs ont modélisé, comme pour les neurones, le fonctionnement électrique de la cellule bêta avec des modèles plus ou moins élaborés ([Bertram et al., 2007], [Pedersen, 2009], [Fridlyand et al., 2009], [Pedersen, 2010]). Le principal objectif de ces modèles est de trouver un lien entre l'activité électrique des cellules des îlots de Langerhans et le taux d'insuline nécessaire à la régulation de la glycémie. Ainsi, en fonction de la présence de PAs ou non on peut savoir de combien d'insuline le corps a besoin. Par conséquent, les cellules bêta chez les personnes non-diabétiques fournissent l'insuline et contribuent donc à maintenir constant le taux de glycémie. Cette action est utilisée en thérapeutique dans le traitement du diabète ; l'utilisation de circuits électroniques mimant l'activité électrique des cellules pancréatiques (pancréas artificiel) ou la greffe de cellules saines sont autant de solutions au traitement du diabète ([Marquie et al., 1997], [Gromada et al., 2004], [Chen et al., 2009]) .

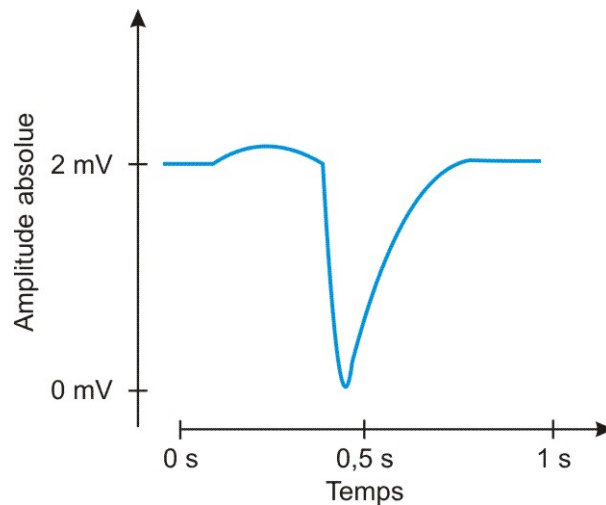


Figure I.7 – PA unitaire pancréatique

1.3 Le diabète

Le diabète est un dysfonctionnement du système de régulation de la glycémie, il s'agit d'une maladie incurable et handicapante, qui affecte 220 millions de personnes dans le monde et dont la progression, notamment chez les jeunes, est alarmante. Il se décompose en trois familles. Le diabète de type 1 (5% des cas) est la conséquence d'une maladie auto-immune, c'est-à-dire la destruction des cellules bêta par le système immunitaire, le diabète de type 2 observé le plus souvent chez des patients en surpoids ou obèse conduit au mauvais fonctionnement des cellules bêta et le diabète gestationnel apparaissant chez certaines femmes enceintes.

La méthode la plus répandue pour le traitement du diabète est l'injection d'insuline par voie sous-cutanée. En prenant en compte plusieurs facteurs (glycémie, poids, repas, exercices physiques etc...) le patient s'injecte la dose adéquate d'insuline. Mais les injections et les contrôles répétés (pluri-quotidiens) sont peu compatibles avec les contraintes et le rythme d'une vie normale. Un contrôle continu du glucose lié à une pompe à insuline ("pancréas artificiel") est une alternative de qualité limitant les risques de complications.

2 L'interface Homme-Machine

L'activité d'une cellule vivante est de notre point de vue une activité électrique. Et comme toute activité il nous faut la mesurer. Pour cela, nous utilisons généralement multimètres, oscilloscopes *etc.*, or ce genre de matériel n'est pas du tout adapté pour une étude sur un matériel biologique. Par conséquent, il faut donc trouver des interfaces que l'on appellera interfaces

bioélectroniques capables d'aller capter le signal électrique. Dans cette partie nous allons essayer de comprendre pourquoi ce besoin d'interface est-il si important ? Nous verrons différents types d'interfaces ainsi que des exemples d'enregistrements d'activités électriques des cellules vivantes.

2.1 Contexte du projet de recherche

Le besoin d'interfaçage bioélectronique et du traitement du signal biologique découle d'une part du besoin de comprendre le fonctionnement du corps humain mais aussi d'autre part du désir de le réhabiliter ou de le contrôler. Dans cette perspective, l'équipe Elibio (ELectionique en Interaction avec la BIOlogie) du laboratoire IMS de Bordeaux qui s'organise autour de l'interaction des systèmes électroniques avec le vivant, dans un but de compréhension des mécanismes biologiques ou de contrôle à visée thérapeutique s'est engagée entre autres sur deux projets nationaux (financés par l'ANR) appelés HYRENE et HY-BIOPACS. Nos travaux se situent dans le contexte de ses deux projets.

2.1.1 HYRENE

HYRENE (HYbridation de REseaux de NEurones pour l'exploration de fonctions de réhabilitation) a été lancé début 2011 et doit se poursuivre jusqu'à fin 2014. Il s'agit d'un projet de recherche fondamentale visant à développer de nouvelles technologies de communication hybride entre réseaux de neurones vivants et réseaux de neurones artificiels électroniques. L'ambition particulière de ce projet est de parvenir à coupler un organe entier (moelle épinière de souris) à un réseau de neurones artificiel (RNA), avec pour objectif de rétablir une activité fonctionnelle de l'organe lorsque celui-ci a subi une lésion. A plus long terme, les concepts mis en place dans le cadre de ce projet permettront de développer des interfaces neuroélectroniques "intelligentes" à des fins de réhabilitation fonctionnelle. La figure [I.8A](#) représente le protocole d'hybridation visé par le projet.

Afin de rétablir la transmission d'une commande motrice provenant des centres supraspinaux (tronc cérébral) vers les réseaux locomoteurs lombaires, une stimulation dans le tronc cérébral est effectuée. Ceci a pour effet d'initier une commande supraspinale descendante qui va engendrer une activité locomotrice au niveau lombaire de la moelle épinière. Ensuite le signal électrique de la commande supraspinale est récupéré au niveau de la matrice de microélectrodes 1 (MEA1) et traité par le réseaux de neurones (RNA) et ses interfaces de communications (un MEA est un ensemble d'électrodes extra-cellulaires mesurant une tension par couplage). Selon la sortie du RNA placé entre les matrices MEA1 et MEA2, une stimulation électrique sera effectuée au niveau de la matrice MEA2 vers les réseaux locomoteurs lombaires.

Ce projet se déroule en coopération entre trois laboratoires : l'IMS (Laboratoire de l'Intégration du matériaux et des Systèmes, UMR 5218) qui s'occupe de la partie électronique du projet et qui est hôte de cette thèse, l'INCLIA (Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine, UMR 5287) qui s'occupe des aspects biologique et physiologique du projet et l'ESYCOM (Laboratoire d'Electronique, Systèmes de Communication et Microsystèmes, EA 2552) s'occupant de la mise au point des matrices de microélectrodes 3D.

La rôle de l'équipe ELIBIO se situe au niveau du RNA et de ses interfaces de communication. Le schéma interface homme-machine développé par notre équipe est présenté en figure I.8B. Le signal électrique mesuré sur les cellules de la moelle épinière est acquis puis amplifié grâce à un LNA (Low Noise Amplifier) pour être ensuite filtré d'une part par un filtre passe-bas afin de visualiser les PAs et d'autre part un filtre passe-haut pour observer les LFPs. Enfin l'information de détection de PA ou d'enveloppe de LFP est envoyée en temps réel au RNA afin de procéder à la stimulation des fonctions motrices.

L'objectif final de ce projet est bien entendu de comprendre les modalités de restauration d'une activité fonctionnelle dans un réseau spinal lésé. Mais, d'un point de vue technique, nous développons de nouvelles méthodes de traitement du signal biologique en temps réel, des matrices MEAs optimisées pour la stimulation localisée, des neurones in-silico interconnectés avec un réseau de neurones vivant ainsi que de nouvelles méthodes de stimulation intra-spinale.

Les travaux de cette thèse dans ce projet se situent au niveau de la partie détection des PAs et commande du RNA.

2.1.2 HY-BIOPACS

HY-BIOPACS (HYbrid BIOelectronic endocrine PAnCreas Sensors) est un programme ANR-Emergence (soutien aux "preuves de concept" en vue de valorisation), lancé début 2011 et se poursuivant durant 24 mois. L'objectif de ce programme est de réaliser un capteur hybride bioélectronique du pancréas endocrine. Comme nous l'avons vu dans la partie 1.1.2, les procédés de détection du besoin d'insuline sont basés sur la mesure biochimique d'un seul paramètre (le glucose) et présentent des limites quant à la fiabilité de détection de l'hyperglycémie, à leur temps de réponse, et à leur incapacité à s'adapter à l'état hormonal du patient. Ils ne permettent pas l'auto-régulation (boucle fermée). A l'inverse, nous avons vu que l'apparition des PAs provenant de l'activité électrique des cellules d'îlots de Langerhans est étroitement corrélé à un ensemble de paramètres chimiques et hormonaux, dont le glucose n'est qu'un élément. Cette thèse propose une méthode de mesure de PAs qui devrait permettre de prendre en compte tous les paramètres du besoin d'insuline et donc de réguler le taux de sucre dans le

Chapitre I. Systèmes de microélectrodes - Au coeur des interactions entre l'électronique et le vivant

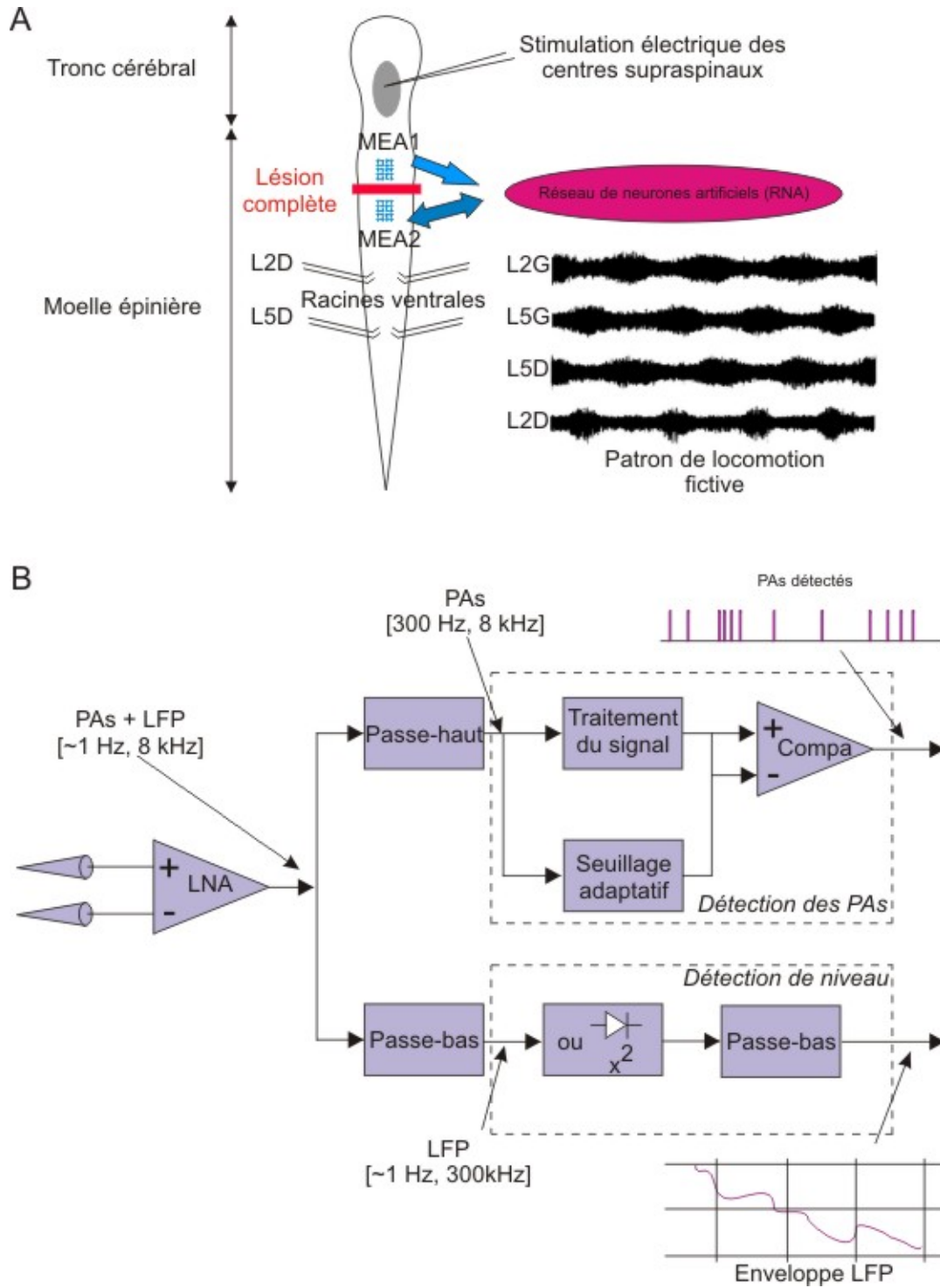


Figure I.8 – Projet Hyrene : A) Protocole expérimental, B) Traitement avant le RNA

sang.

Ce projet se déroule en coopération entre trois laboratoires : l'IECB (Institut Européen de Chimie et Biologie, UMR5248) dont la tâche est de réaliser des préparations biologiques et d'enregistrer des cellules pancréatiques sur des interfaces de microélectrode (MEAs), l'IMS qui développe des algorithmes et des circuits de traitement des signaux cellulaires pour la détection des potentiels d'action et de décodage du besoin d'insuline et enfin Aquitaine Valo (service de valorisation de la recherche du Pôle de Recherche et d'Enseignement Supérieur (PRES) "Université de Bordeaux") dont le rôle est de s'occuper de l'aspect valorisation et de la protection des intérêts du projet .

Ces deux projets sont à la genèse de cette thèse et nous prouvent à quel point l'acquisition du signal biologique ainsi que le traitement de ce dernier sont des actions cruciales. Une réhabilitation ou un contrôle de certaines fonctions du corps humain nécessitent une acquisition suivie d'un traitement du signal *ad-hoc* afin de prendre une décision adaptée. Dans les applications que nous traitons, les réseaux de multi électrodes sont les premiers éléments du lien Homme-Machine. Dans la partie suivante, nous allons voir les différents types de microélectrodes ainsi que les conséquences de leur utilisation sur le tissu biologique et sur la mesure de son activité électrique.

2.2 Les interfaces bioélectroniques

Une interface bioélectronique est une interface qui va venir mesurer l'activité électrique d'un organisme vivant et/ou stimuler ce dernier. Deux grandes catégories d'interface existent : les interfaces invasives destinées à enregistrer des signaux électriques au sein même du cerveau ou d'un muscle et les interfaces non-invasives venant se placer autour de l'endroit à étudier. Le panel d'interfaces en interaction avec le vivant est si large que nous ne pouvons pas en faire une description exhaustive mais nous allons en voir les principales techniques et matériels pour les interfaces invasives.

2.2.1 Interfaces invasives

La figure [I.9](#) représente les principaux types d'interface invasives que l'on retrouve lors d'expériences *in vivo* (sur animal vivant), *ex vivo* (sur organe prélevé) et *in vitro* (sur culture cellulaire). Dans cette partie, nous allons faire une description des principales interfaces invasives.

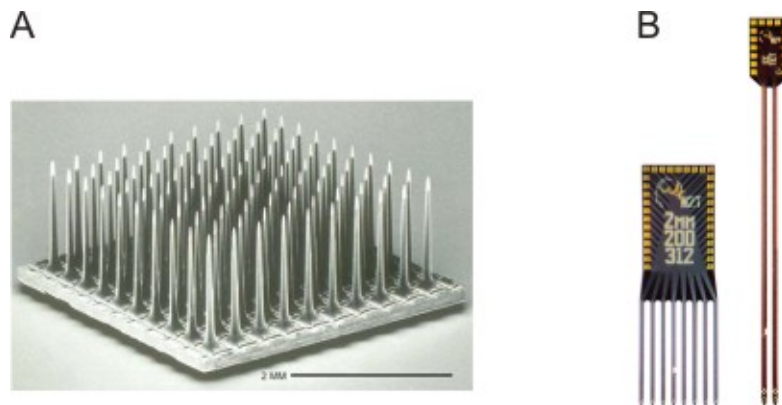


Figure I.9 – Interfaces invasives. A) MEMS selon un système de microélectrodes 3D, B) MEMS en fourchette

La technique du patch-clamp utilise une micropipette de verre afin d'enregistrer la différence de potentiel due aux courants ioniques transitant à travers les membranes cellulaires des cellules excitables. Cette technique est généralement utilisée dans le cas de préparations *in vitro*. La pointe effilée d'une micropipette de verre est mise en contact étroit avec un très petit morceau de la membrane cellulaire. Avec une légère succion, la membrane se scelle hermétiquement à l'extrémité de la pipette et permet à l'utilisateur de mesurer les échanges ioniques à travers la membrane. Tout ion qui sort de la membrane au niveau de la pipette entre dans cette dernière et génère un courant électrique ([Speier and Rupnik, 2003]). Cette méthode permet donc d'enregistrer des signaux que l'on qualifie de signaux intra-cellulaires car ils sont mesurés entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule.

Les MEMS (Micro Electro Mechanical Sensor) sont la deuxième grande famille d'interfaces invasives utilisées. On les retrouve la plupart du temps dans des expériences *ex vivo* et *in vivo*. Contrairement au patch-clamp qui nécessite une très grande précision afin de se placer à la surface de la membrane, l'utilisation des MEMS ne requiert pas une telle précision. Il suffit de positionner le MEMS à l'endroit de l'expérimentation et de l'enfoncer dans le tissu afin de commencer l'enregistrement des signaux extra-cellulaires (autour de la cellule). Les MEMS se déclinent suivant un système de microélectrodes (fig I.9.A) ou suivant des fourchettes (figure I.9.B). En ce qui concerne la stimulation, le système DBS (Deep Brain Stimulation) est très répandu ([Benazzouz, 2004], [Bootin, 2006], [Coffey, 2009],[Kolbl et al., 2010]) dans la thérapie de la maladie de Parkinson. En effet, une stimulation intra-cranienne du Noyau Sous Thalamique (NST) permet la réduction des symptômes de tremblement et d'akinésie. Le modèle électrique pris en compte, pour des signaux avec des courants et tensions faibles, avec de telles interfaces est présenté en figure I.10. Les microélectrodes implantables avec une

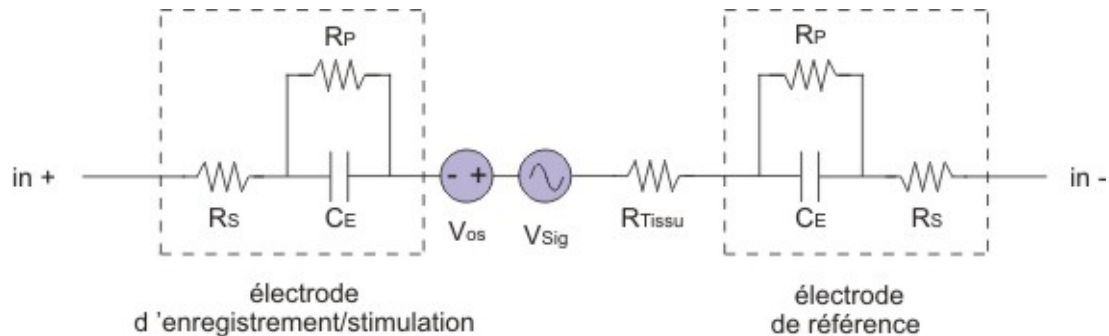


Figure I.10 – Modèle électrique des électrodes invasives [Harrison, 2011]. R_s , R_{Tissu} et R_p : Résistance, C_e : Condensateur

petite surface ont une impédance comprise entre 50 kohm et 10 Mohm à 1kHz suivant leur matériau et l'application. L'angle de phase à 1kHz est proche de -90 degré, donc les électrodes se comportent principalement comme des capacités avec des valeurs comprises entre 16pF et 3.2nF. Les résistances ($R_s + R_{\text{Tissu}}$) sont de l'ordre du k Ω ([Harrison, 2011]).

L'université du Michigan avec l'entreprise NeuroNexus ou l'université de l'Utah avec Blackrock Microsystem sont des pionniers dans le domaine de la fabrication de mono/multi microélectrodes invasives à tel point qu'on parle de microélectrodes Michigan ou Utah ([Shulyzki et al., 2011]). La technologie de fabrication des MEMS repose sur des électrodes fabriquées en platine, en or ou en platine-irridium encapsulées dans un matériau isolant tel que silicone, polyimide ou le parylene *etc.* La diamètre et la profondeur des électrodes est variable et se situe entre 15 μm et 50 μm de diamètre et 2 mm à 15 mm de profondeur ([Shulyzki et al., 2011]). Ces électrodes commerciales sont très pratiques lorsqu'on veut faire des tests préliminaires, mais lorsqu'on veut produire des systèmes entièrement personnalisés, des électrodes personnalisées sont nécessaires ([Kato et al., 2006], [HajjHassan et al., 2008]).

Le principal avantage de ces interfaces est le fait qu'elles permettent d'enregistrer une activité électrique de façon précise. En localisant le capteur à un certain endroit, l'enregistrement ou la stimulation d'une zone de l'élément vivant cible devient facile avec toutefois une résolution limitée (stimuler et enregistrer l'activité électrique d'une zone du cerveau est envisageable, mais stimuler un neurone n'est pas encore possible). De part leur taille et les bons résultats obtenus, ce genre d'interface invasive est largement utilisée et implantée chez l'animal et l'homme ([Benazzouz, 2004], [Bootin, 2006], [Coffey, 2009]).

En revanche, à long terme, l'introduction d'un corps étranger au sein d'un organisme vivant a plusieurs conséquences. La destruction des cellules vivantes lors de l'insertion de l'interface, la hausse de la température ([Sohee et al., 2007]) dûe aux circuits électroniques ou le phénomène

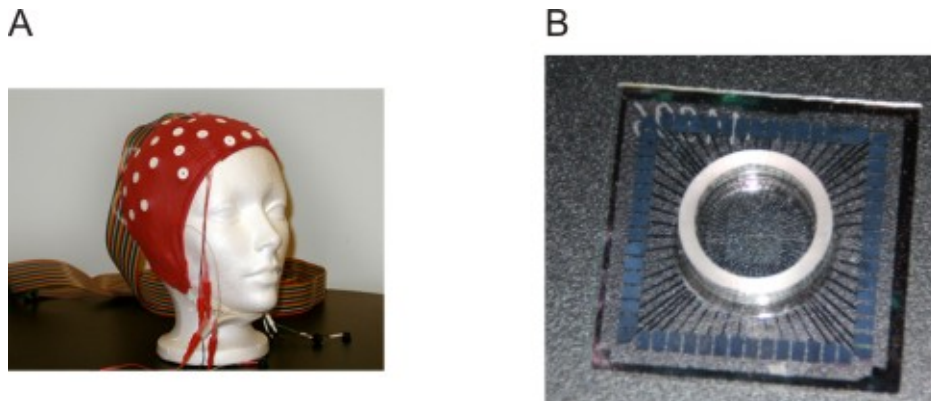


Figure I.11 – Interfaces non-invasives. A) Interface électrode-tissu mesurant les EEG, B) Réseaux de microélectrodes 60 canaux

de fibrose, sont des limites à l'utilisation des interfaces invasives. De plus certains organes comme le pancréas ont une texture qui ne permet pas de maintenir la cohésion mécanique d'une électrode. Une alternative est d'utiliser des interfaces non-invasives.

2.2.2 Interfaces non-invasives.

Comme pour les électrodes invasives, on note aussi plusieurs types d'électrodes ; les interfaces électrode-tissu (figure I.11.A) ou les réseaux de microélectrodes (figure I.11.B). Ces électrodes mesurent des signaux extra-cellulaires.

Certains examens médicaux ou expériences scientifiques ne peuvent pas tolérer l'insertion d'une électrode dans le tissu vivant. Cela est le cas par exemple pour la visualisation des battements cardiaques (ECG) ou la mesure de l'activité électrique globale du cerveau (EEG) (figure I.11.A) où on va venir appliquer des électrodes sur le tissu vivant (la poitrine ou la tête) sans l'endommager. D'un point de vue électronique, on modélise ces interfaces de la même manière que dans la figure I.10. La seule différence se situe au niveau des valeurs des résistances et des capacités ($C_E=60$ nF, $R_S=7$ ohm, $R_p=210$ kohm, $R_{\text{tissu}}=1.7$ kohm) ([Harrison, 2011]). Comparé aux électrodes invasives, les effets capacitifs et résistifs sont beaucoup plus importants, ce qui va causer une déformation et une atténuation du signal beaucoup plus importante. Ce genre d'électrode est utilisée pour des signaux d'amplitude élevée (ECG) ou des signaux où seule la notion d'enveloppe est importante (EEG).

L'autre type d'interface non-invasive concerne les réseaux de multi-électrodes ou Micro Electrode Arrays (MEAs) utilisées dans de nombreuses expériences *in vivo* ou *in vitro* (Un MEA est une matrice contenant $L * l$ électrodes planaires ($6 * 6$, $8 * 8$, $60 * 60$ etc.) avec un diamètre

d'électrode compris entre 10 et 30 μm). Dans le cadre de mesures *in vivo*, on trouve ce types d'électrodes non-invasives dans différents projets concernant par exemple les travaux sur les prothèses de rétine ([Ahuja et al., 2010]). Le but est d'utiliser des MEAs avec des récepteurs de lumière (type photodiode) et ensuite stimuler électriquement la rétine ou le cerveau avec les électrodes. Plusieurs laboratoires notamment américains se sont lancés dans ces applications (USC/Caltech/UCSC-SSMP, Retina Implant GmbH, Intelligent Medical Implants etc...). Ce genre d'électrode est utilisé dans le programme de recherche HYRENE où des MEAs 3D ont été insérés dans des moelles épinières de souris afin d'extraire l'activité locomotrice circulant dans la moelle.

Au delà de l'utilisation des MEAs non invasifs sur des expériences *in vivo*, on retrouve très souvent ce genre d'interface sur des expériences *in vitro* ([Gullo et al., 2009], [Maccione et al., 2009], [Nam and Wheeler, 2011]). Les interfaces utilisées pendant cette thèse ont été acquises auprès de l'entreprise Multi Channel Systems (MCS) et les caractéristiques techniques sont présentées dans la figure I.11.B et sont utilisées dans le programme de recherche HY-BIOPACS. Le choix de cultiver deux types de cellules pancréatiques (primaires et clonales) a été adopté afin d'étudier les phénomènes biologiques. La grande différence entre ces deux types de cellules est le fait que dans une préparation primaire tous les composants cellulaires d'un îlot de Langerhans sont actifs (cellule alpha, cellule bêta, cellule delta et cellule polypeptidique) alors que dans les préparations clonales seul un type de composant cellulaire est actif.

2.2.3 Exemple de préparation de cellules pancréatiques primaires sur MEAs non-invasifs

Dans le cadre du projet Hy-BIOPACS, la mise en culture des cellules primaires sur MEA nécessite un processus long et rigoureux qui est présenté en annexe. Afin de mieux appréhender les contraintes et les procédés utilisés par les biologistes, nous avons participé à ces préparations que nous illustrons ici. Les figures I.12 et I.13 représentent les grandes étapes du processus de préparation des MEAs. Le pancréas d'une souris ou d'un rat est extrait de manière chirurgicale suivant un protocole bien précis conforme aux règles en vigueur sur la disséction d'animaux en laboratoire.

- La première étape consiste à asphyxier le rat grâce à un mélange de glace carbonique et d'éthanol afin de le sacrifier.
- La peau abdominale est ensuite retirée afin de faire apparaître les différents organes du rat (figure I.12A). Le pancréas est situé sous l'estomac et le foie. Nous allons donc déplacer le foie afin de faire apparaître le canal cholédoque qui transporte la bile depuis le foie vers

les autres organes dont le pancréas.

- A ce stade, le pancréas n'est pas encore visible, pour ce faire, nous allons le remplir d'un liquide appelé collagénase afin de le faire grossir et le retirer. Pour cela, nous ligaturons le canal cholédoque afin de s'assurer que la majeure partie de la collagénase aille dans le pancréas et non dans les intestins (figure I.12B). Ainsi le pancréas augmente de volume et nous pouvons l'observer (figure I.12C) et l'extraire (figure I.12D).
- Il est ensuite mixé et mélangé à de la collagénase qui a la propriété de digérer le pancréas.
- Après un certain temps, l'arrêt de la réaction de digestion (grâce à une solution dite *Krebs* et dont la composition est présentée en annexe) est amorcé. Lorsque les îlots de Langerhans commencent à être observables, leurs comptage peut commencer (figure I.13A). Pour remplir un MEA de 60 électrodes (diamètre $10\mu\text{m}$ et $100\mu\text{m}$ d'espacement entre chaque électrode) convenablement, il faut compter et isoler au minimum 100 îlots pour être sûr d'observer une activité électrique sur toute la surface du MEA.
- Lorsque l'isolation des îlots est terminée, ils sont mélangés à deux solutions : la tripsine qui a la propriété de dissocier les îlots de Langherans (cad dissocier les cellules bêta, alpha etc...) et le Matrigel qui sert à l'adhésion des cellules sur les électrodes.
- La dernière étape consiste à ajouter le milieu contenant nutriments et acides aminés nécessaires au bon fonctionnement de la cellule sur le MEA (figure I.13B) qui est donc prêt à être utilisé en expérience. La durée de vie de ces préparations est variable selon les conditions expérimentales mais elle est comprise entre 1 h pour un MEA sans renouvellement du milieu de culture et 6 h pour un MEA avec renouvellement du milieu.

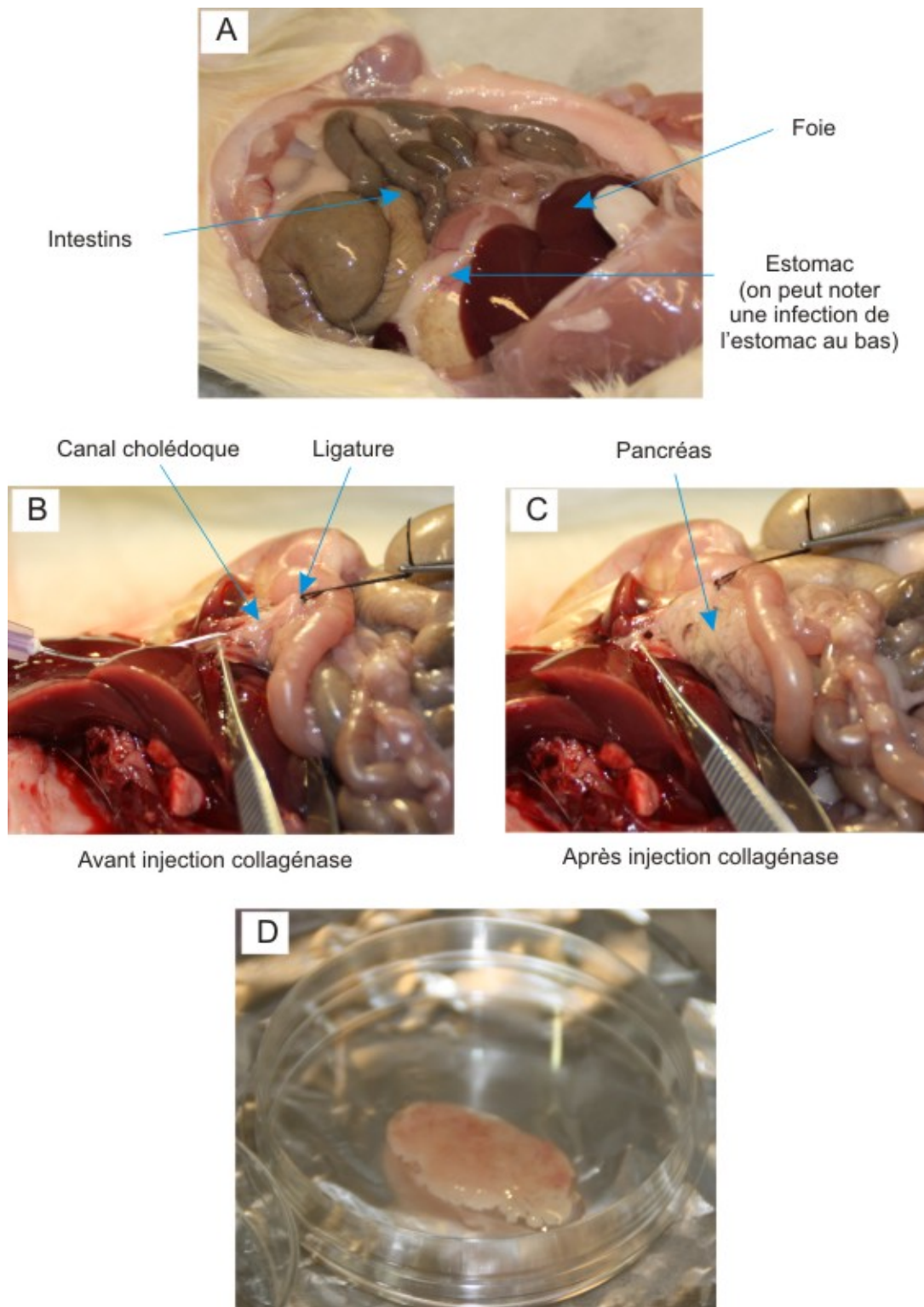


Figure I.12 – Préparation de cellules pancréatiques primaires sur MEAs non-invasifs : A) Système abdominal du rat, B) Etat du pancréas avant l'injection de collagénase, C) Etat du pancréas après l'injection de collagénase, D) Pancréas isolé

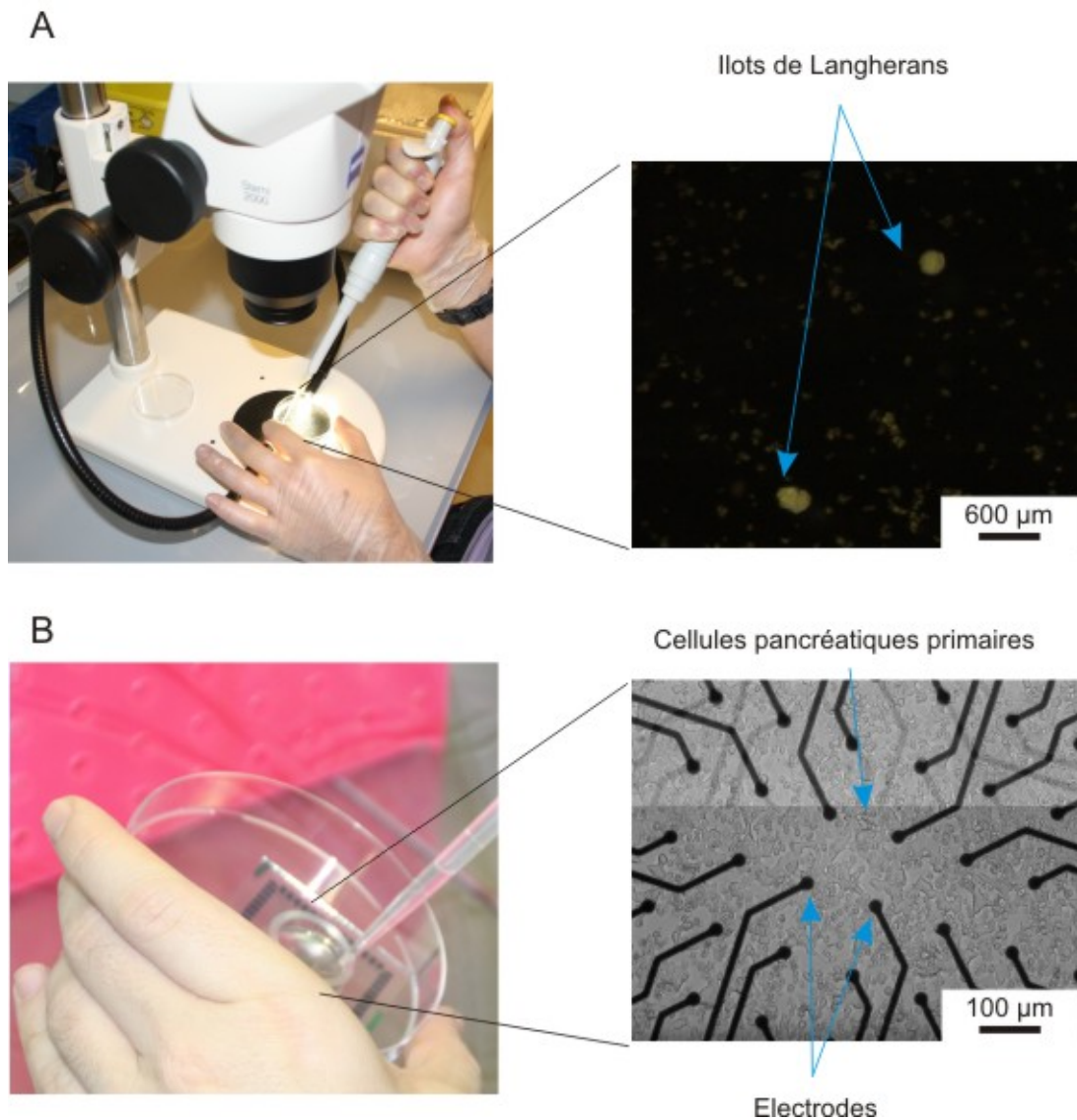


Figure I.13 – Préparation de cellules pancréatiques primaires sur MEAs non-invasifs : A) Comptage et extraction des îlots de Langerhans par l'intermédiaire d'une pipette, B) Pose des cellules pancréatiques sur MEA

2.2.4 Les interfaces et le bruit

La mesure d'un phénomène électrique révèle systématiquement un bruit brouillant et pouvant même aller jusqu'à couvrir le signal utile. Les sources de bruit peuvent être classées en deux grandes catégories : le bruit que l'on appelle électronique et le bruit issu de l'environnement.

Le bruit électronique est dû aux dispositifs de mesure implantés, en d'autre terme l'interface bioélectronique est la source de bruit concerné. Il y a tout d'abord le bruit thermique

engendré par les composants électroniques sur l'électrode qui vont, du fait de leur fonctionnement, augmenter la température dans le tissu vivant et modifier le signal biologique. Si un pré-amplificateur est placé sur l'électrode (ce qui est le cas dans la majorité des cas), ce bruit est accentué. Ensuite, on peut noter le bruit électrique causé par les électrodes de mesure. Et enfin, il y a le bruit électromagnétique engendré par les liaisons RF, la présence d'un téléphone portable *etc.*

La seconde catégorie de source de bruit, sur laquelle le concepteur n'a pas ou peu de contrôle, est principalement constituée par le bruit provenant des autres entités situées dans le milieu de mesure. En ce qui concerne les neurones, du fait de leur taille, les électrodes de mesure *in vivo* actuellement sur le marché ne permettent pas encore de mesurer le signal d'un seul et unique neurone, on doit mesurer le signal de la population d'une zone autour de l'électrode. Or ce milieu est affecté par des potentiels de champs (LFP) de même que par les potentiels d'action des neurones plus éloignés dont la réponse est affaiblie mais tout de même mesurable.

De manière générale, en ce qui concerne le niveau de bruit, les mesures faites de façon intra-cellulaire comportent beaucoup moins de bruit que les mesures faites grâce à des électrodes extra-cellulaires. Cela s'explique principalement par le fait que ce type d'électrode se situe beaucoup plus près de la cellule à étudier. En ce qui concerne la faisabilité et la reproductibilité, les mesures extra-cellulaires sont beaucoup plus pertinentes. Ainsi en fonction de l'utilisation, l'utilisateur devra évaluer la meilleure méthode d'interfaçage bioélectronique. L'hypothèse formulée est que l'addition de ces deux bruits peut être approximée comme étant un bruit blanc gaussien [Harrison, 2003].

Lors de cette thèse nous avons pu côtoyer les deux types d'interfaces. Dans le projet HY-RENE, la méthode privilégiée a été la fabrication d'interfaces invasives afin de stimuler le tissu vivant. En effet, plonger une électrode au sein de la moelle épinière nous permet de stimuler le tissu sur une plus grande surface et ainsi trouver le meilleur endroit et la meilleure profondeur de stimulation. En ce qui concerne le projet HY-BIOPACS, les interfaces invasives ont tout de suite été écartées car la texture du pancréas (figure I.12D) n'est pas du tout adaptée à ce type d'interface. Ainsi la culture *in vitro* avec des MEAs non-invasifs nous a permis de répéter un nombre important de fois nos expériences afin de tester nos circuits sur différents types de cellule pancréatiques (primaires et clonales). Un exemple de signal neuronal extrait de la moelle épinière de souris ainsi qu'un signal pancréatique de cellule clonale sont présentés en figure I.14.

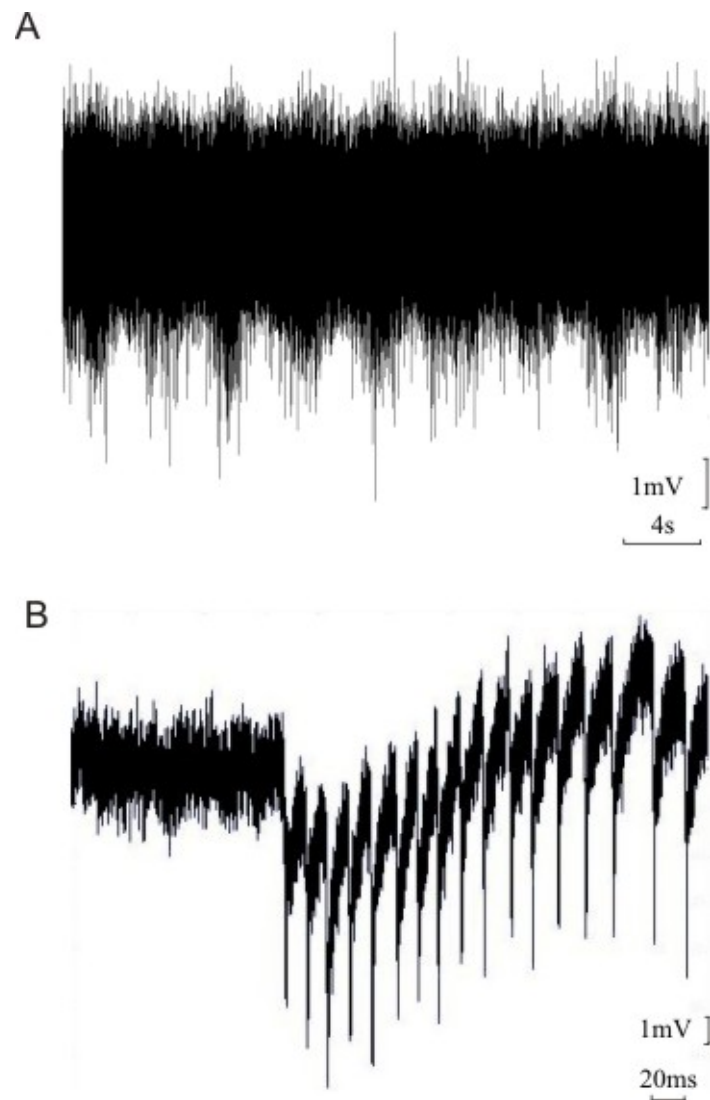


Figure I.14 – A) Signal neuronal de contrôle de locomotion, provenant de la moelle épinière de souris, enregistré avec un gain de 1000 à partir d'électrodes invasives, B) Signal pancréatique issu d'une cellule bêta avec un gain de 1000 à partir d'électrodes non invasives.

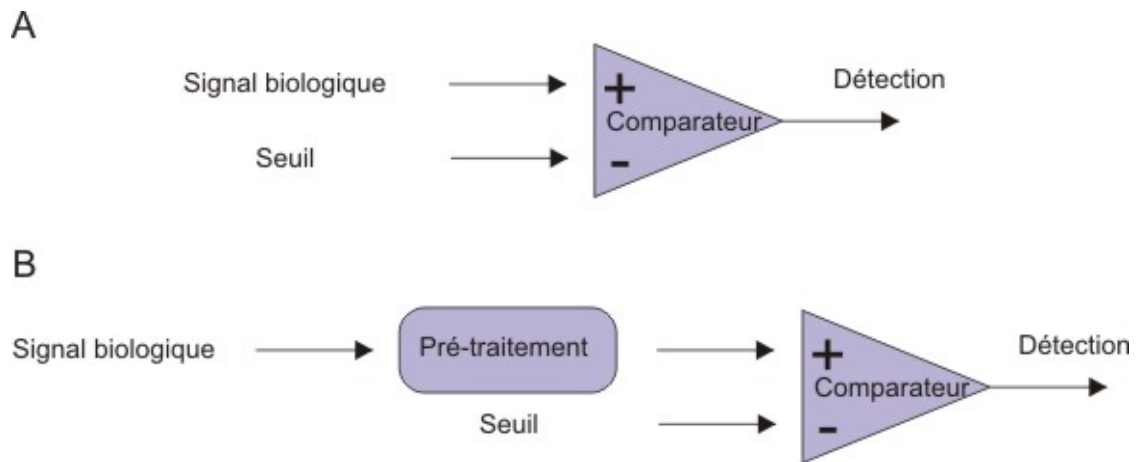


Figure I.15 – Méthodes de seuillage : A) Méthode par seuillage brut, B) Méthode par transformation puis par seuillage

3 L'électronique et la détection de PA par seuillage

"La vie est un long fleuve tranquille. Ce sont les rives qui sont dangereuses. Il ne faudrait jamais aborder." Denis Langlois

Les interfaces bioélectroniques permettent donc de capter le fonctionnement électrique d'un tissu vivant. C'est donc après ces interfaces (couplées généralement avec un étage d'amplification du signal) que nos compétences d'électroniciens peuvent s'exprimer. Dans cette partie, nous verrons les différents types de traitement électronique qui sont mis en jeu afin d'extraire l'information électrique que nous souhaitons extraire du milieu vivant : le PA. En effet, le principal objectif de cette thèse est de détecter ces PAs afin de décoder le message vivant et lui envoyer une réponse adéquate si nécessaire. Cette partie permettra grâce à l'évocation des différentes techniques de détection de PA d'identifier les principales contraintes auxquelles tout concepteur de circuit intégré interfacé avec la biologie doit faire face.

La principale méthode de détection d'un PA est la méthode dite de seuillage. Si le signal vivant est au dessus du seuil alors le signal est considéré comme un PA. Une autre méthode consiste à comparer le signal par rapport à une référence fixe ([Sarna et al., 1988]). Ensuite le concepteur a le choix du signal auquel appliquer ce seuil : le signal d'origine (méthode de seuillage brut) (figure I.15A) ou le signal traité (méthode par transformation puis par seuillage) (figure I.15B).

3.1 Méthode par seuillage brut

Dans cette méthode, le seul degré de liberté laissé à l'utilisateur est le calcul du seuil auquel le signal est comparé. Le principal objectif est de fixer le seuil de manière à ce qu'il se trouve au-dessus du bruit du signal sans être ni trop haut, ni trop bas afin de ne pas détecter du bruit. Le schéma structurel de cette méthode est présenté en figure I.15A. Le seuil est calculé puis est comparé au signal d'entrée biologique. Plusieurs implémentations matérielles sont envisageables.

3.1.1 Le seuil fixe

La première solution est de positionner manuellement un seuil qui sera fixe. Il faut donc une période assez longue afin de visualiser et d'enregistrer le signal avant de régler manuellement le seuil afin de le fixer au-dessus du bruit. Cette méthode est largement répandue dans les laboratoires, du fait de sa simplicité d'utilisation par des utilisateurs habitués aux signaux biologiques tels que les biologistes ou des bio-ingénieurs . [Horiuchi et al., 2004] présente un circuit de détection où le seuil est une simple entrée en tension fixée par l'utilisateur.

De par l'augmentation du nombre d'électrode dans les interfaces bioélectroniques ainsi que la variabilité du signal biologique au cours du temps, fixer le seuil manuellement est une tâche fastidieuse et hasardeuse. Elle est dépendante de la sensibilité de l'utilisateur et n'est pas envisageable pour des systèmes embarqués et autonomes, et son établissement ne peut donc pas être automatisé. Il existe donc d'autres méthodes, à base mathématique, pour fixer ce seuil appelé alors *seuil adapté*.

[Mtetwa and Smith, 2006] propose une review des différentes méthodes mathématiques de calcul de seuil adapté pour les PAs neuronaux. Sur un signal de référence (le "template"), une opération mathématique est effectuée afin de calculer un seuil qui sera appliqué au signal. Parmi elles se trouvent les opérations SSD (Sum of Square Differences) ou CONV (Convolution based template matching). Ces méthodes ont montré de très bons résultats en matière de détection mais ont été implémentées de façon logicielle sans contrainte de temps réel et en dehors de la chaîne d'acquisition du signal biologique.

Une autre méthode consiste à fixer ce que [Donoho, 1995] appelle seuil universel (T), défini comme suit :

$$T = \sigma * \sqrt{2 * \log(N)} \text{ avec } \sigma = \sqrt{\frac{1}{N-1} \cdot \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x}_i)^2} \quad (\text{I.a})$$

Où σ est l'écart type (ou le niveau de bruit estimé), x_i est le signal brut échantillonné et N le nombre d'échantillons du signal d'entrée. Dans son équation Donoho utilise le fait qu'un bruit blanc gaussien peut être entièrement décrit par son écart type (σ). Or, comme nous avons pu le

I.3 L'électronique et la détection de PA par seuillage

voir dans la partie précédente, le bruit provenant des signaux neuronaux ou pancréatiques peut être assimilé à un bruit blanc Gaussien. En partant de ce fait, on peut en déduire qu'il suffit de calculer l'écart type du bruit afin de calculer le seuil adapté T . Pour une implémentation en analogique [Harrison, 2003] a simplifié la formule du seuil universel de Donoho en laissant à l'utilisateur le choix du coefficient de multiplication (K) afin de régler le seuil plus ou moins près du niveau de bruit.

$$T = \sigma * K \quad (\text{I.b})$$

Avec cette méthode, il suffit de calculer l'écart type du signal et ainsi avoir une approximation du niveau de bruit et du seuil à appliquer au signal biologique. Cette technique est utilisée par les outils logiciels d'acquisition de signaux biologiques (type MCS). En sélectionnant une partie du signal où il n'y a pas de PA (afin de ne pas corrompre le calcul de l'écart type du bruit), les logiciels calculent l'écart type selon la formule en equation I.a. Ensuite il faut préciser le coefficient K afin de se situer juste au-dessus du bruit. Par la suite le seuil est considéré comme fixé.

Mais, comme la vie, un signal biologique n'est pas un long fleuve tranquille. Un mouvement, une onde radio ou de téléphone, les électrodes elles-mêmes peuvent amener une variation lente du signal ou une élévation du niveau de bruit qui va venir faire annuler tous les efforts déployés menant à l'établissement du seuil. En effet, un seuil adapté ou un seuil évalué manuellement, ne sont pas du tout robustes pour extraire des PAs dans un milieu bruité ou instable comme peuvent l'être les signaux vivants.

Par conséquent, il faut considérer un seuil qui va venir suivre ces variations en temps réel afin de rester en toute circonstance au dessus du niveau de bruit.

3.1.2 Le seuil adaptatif

Le seuil adaptatif est un seuil adapté dont la valeur va être actualisée afin de suivre en continu les variations de bruit du signal source. Pour cela, un moyen est de calculer sa valeur moyenne ou son écart type en temps réel (afin de caractériser en permanence le signal d'entrée). Une solution est d'utiliser les formules générales de V_{rms} et σ , sur des fenêtres temporelles glissantes qui vont calculer à intervalle régulier la valeur moyenne ou l'écart type. Ces fenêtres doivent d'une part être assez longues pour produire un calcul significatif mais aussi d'autre part assez courtes afin de suivre rapidement la variation du signal d'entrée.

- [Barati and Sodagar, 2011] propose un système discret utilisant la valeur V_{rms} ainsi que la valeur moyenne du signal afin de calculer son seuil $Tbar$ qui est décrit suivant l'équation

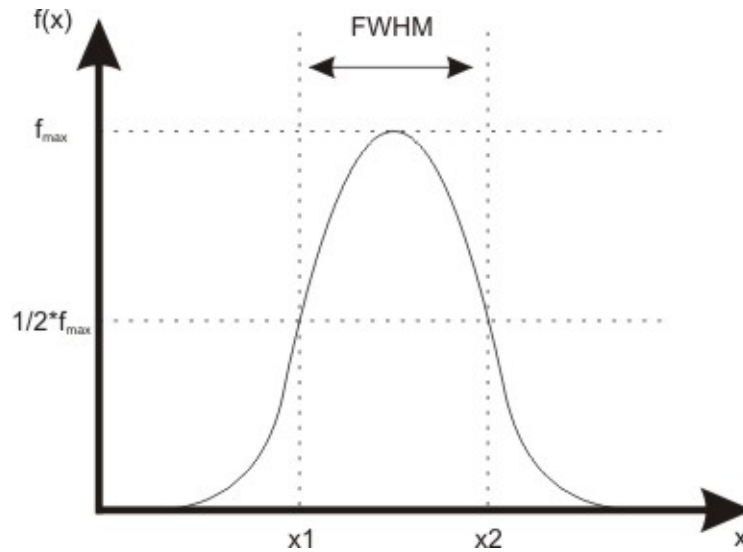


Figure I.16 – Distribution normale du signal $f(x)$ et représentation de la largeur à mi-hauteur FWHM.

suivante et réactualisé à l'arrivée de chaque échantillon n :

$$Tbar[n] = AVG[n] + k * RMS[n] \quad (I.c)$$

où k est un coefficient multiplicateur afin de se situer au dessus du bruit, n est le numéro d'échantillon, AVG est la valeur moyenne et RMS est la valeur efficace du signal source. Ainsi en calculant ce seuil sur des fenêtres glissantes, la valeur du seuil est mise à jour en continu.

- [Beche et al., 2009] propose un circuit numérique codé en VHDL afin de calculer un seuil adaptatif. Son objectif est de calculer l'écart type en temps réel en utilisant des fenêtres glissantes ainsi que la largeur à mi-hauteur du signal (FWHM : Full Width at half Maximum). En effet, l'écart type peut être exprimé en fonction de la largeur à mi-hauteur FWHM du signal selon l'équation I.d. La figure I.16 illustre l'évaluation de la FWHM à partir d'une distribution normale d'une fonction $f(x)$.

$$\sigma_{FWHM} = \frac{FWHM}{2 * \sqrt{2 * \ln(2)}} \quad (I.d)$$

Sur une fenêtre fixe, une distribution normale du signal est effectuée et la largeur à mi-hauteur en est extraite . Il ne reste plus qu'à fixer le bon coefficient multiplicateur pour en déduire le seuil. En utilisant plusieurs fenêtres fixes que l'on décalera dans le temps, on pourra recommencer ce calcul et obtenir un seuil qui va venir s'adapter en temps réel (le temps réel

est corrélé à la largeur de la fenêtre fixe).

- [Chung-Ching et al., 2009] propose un système intégré qui calcule le seuil grâce à une boucle comprenant plusieurs étapes. La première étape est de calculer la valeur moyenne du signal sur une certaine période. Ensuite, le seuil est comparé au signal d'entrée. Le seuil est ajusté grâce à une machine d'état qui en fonction de l'impact sur les performances du détecteur du seuil précédent décide de diminuer ou d'augmenter le seuil. Ce circuit n'a été testé qu'en simulation.

- [Harrison, 2003] et [Donghwi et al., 2008] proposent un moyen de calculer l'écart type de façon automatique et en temps réel grâce à un circuit intégré. Leur méthode s'appuie non pas sur la définition mathématique de l'écart type présentée dans l'équation I.a mais plutôt sur une propriété du bruit blanc Gaussien. En effet, en ce qui concerne un bruit blanc Gaussien, on considère que si un seuil est fixé à σ , la probabilité que ce bruit dépasse ce seuil est de 0,159 ([Harrison, 2003]). Il suffit ensuite d'asservir le calcul de l'écart type par rapport au nombre d'échantillons situés au dessus de l'écart type calculé. Lorsque le système est à l'équilibre, l'écart type estimé est considéré comme correct.

Une version similaire se basant sur cette même théorie de calcul de l'écart type a été implémentée au sein de l'équipe Elibio. Nous avons encadré la réalisation d'un circuit intégré de type ASIC appelé OSLO et conçu dans le cadre d'un stage de fin d'étude par M.Guillaume ARNAUD [Arnaud, 2011] (voir le layout présenté en figure I.17). Le rôle de ce circuit est de calculer un seuil adaptatif sur un signal biologique. Un filtre passe-bas venant stabiliser la valeur de l'écart type ainsi qu'un moyen de régler le temps de détection entre deux PAs ont été ajouté par rapport à la version d'origine de Harrison. Le circuit est aujourd'hui en phase de test dans notre équipe. La détection des PAs à partir du signal brut en utilisant un seuil adaptatif semble être la meilleure méthode pour automatiser l'extraction des PAs [Harrison, 2003], [Watkins et al., 2004], [Quotb et al., 2011]. Ensuite, le point négatif de cette méthode est que le résultat de la détection dépend en grande partie du signal d'entrée. Avec des enregistrements provenant d'électrodes intra-cellulaires où le rapport signal à bruit (SNR) n'est pas trop faible, ce type de circuit est tout à fait dédié pour la détection de PAs. Mais avec des enregistrements extra-cellulaires où le bruit est considérablement augmenté par rapport aux électrodes intra-cellulaires, la détection sur signal brut devient extrêmement délicate. Par conséquent, il faut trouver un moyen de minimiser cette contrainte en traitant le signal d'entrée avant d'en extraire un seuil afin de diminuer l'effet du bruit et d'extraire les PAs.

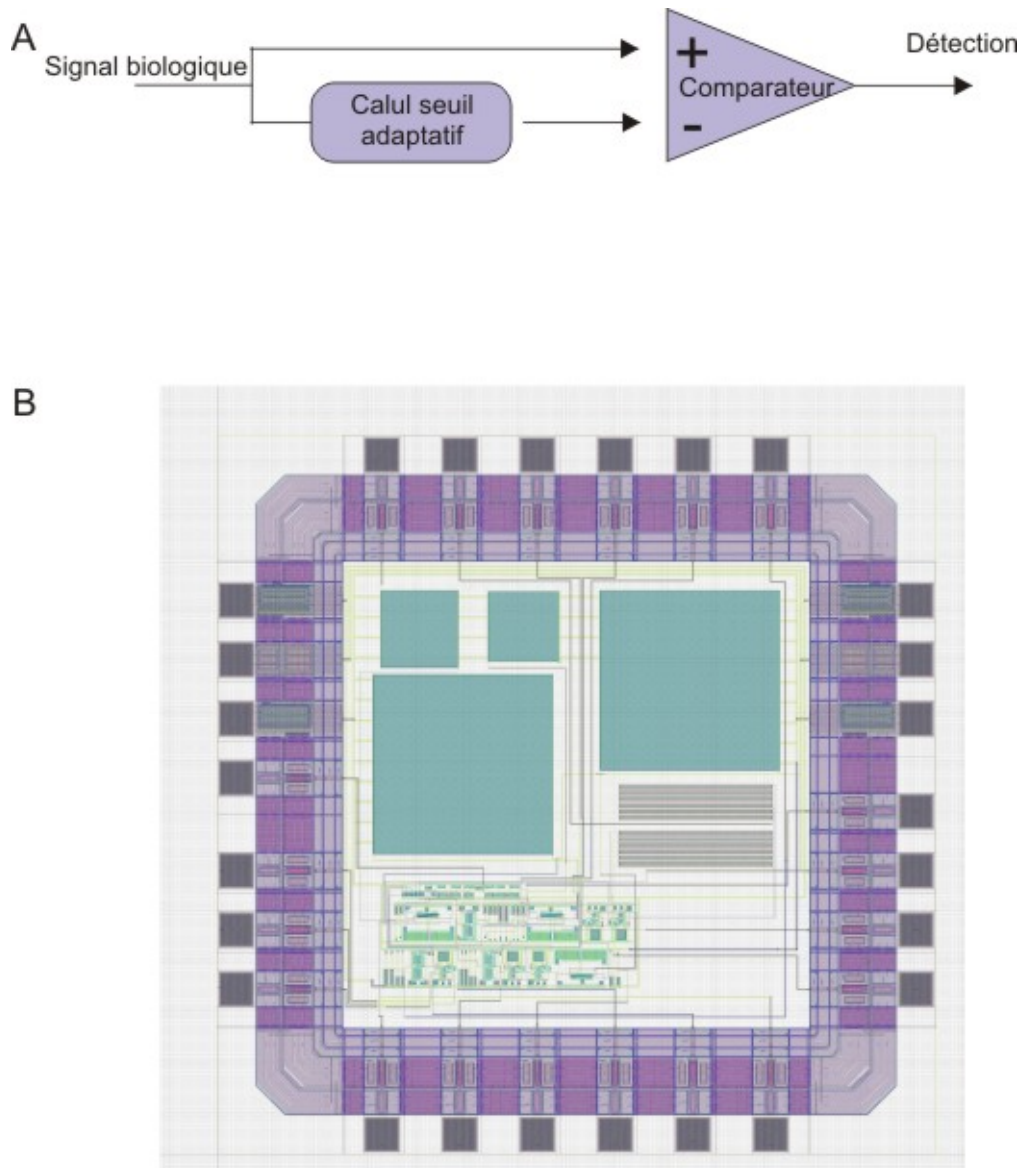


Figure I.17 – A) Schéma bloc du circuit intégré OSLO, B) Masques de fabrication du circuit intégré OSLO

3.2 Méthode par transformée puis par seuillage

Cette partie sera axée sur la description des différentes méthodes utilisant le principe décrit dans la figure I.15B. Le principal objectif est d'effectuer un pré-traitement rendant le signal plus sujet à un seuillage. [Obeid, 2007] a effectué un état de l'art des principaux détecteurs et en a déduit qu'un étage de pré-traitement avant le seuillage améliore les performances de détection de façon significative. Ainsi le seuillage en milieu très bruité devient comme, nous allons le voir, un défi réalisable.

La transformée la plus simple consiste à calculer la valeur absolue du signal. Ce type de calcul permet d'avoir une détection correcte sur des signaux peu bruités.

[Mukhopadhyay and Ray, 1998], [Obeid, 2007], [Moo Sung et al., 2008], [Drolet et al., 2011] présentent l'utilisation du pré-traitement TEO (Teager Energy Operator) défini par l'équation I.e.

$$\Psi_{TEO}[x(n)] = x^2(n) - x(n+1) * x(n-1) \quad (\text{I.e})$$

Où $x[n]$ représente l'échantillon provenant du signal d'entrée biologique et $\Psi_{TEO}[x(n)]$ représente la sortie du calcul du TEO. La principale fonction du TEO est de faire ressortir les PAs du bruit en amplitude et en fréquence. En terme d'efficacité, l'utilisation du TEO apporte une amélioration considérable par rapport au simple seuillage sur signal brut ou celui utilisant la valeur absolue mais reste encore insuffisant pour des signaux très bruités. En terme d'utilisation, on trouve des TEO implémentés en analogique ([Gosselin and Sawan, 2009]) et numérique ([Drolet et al., 2011]) avec des coûts en surface silicium compatibles pour l'implémentation embarquée.

A un autre niveau en terme d'efficacité de détection en milieu très bruité, on trouve la transformée en ondelettes (ou "wavelet transform"). A l'origine développée pour la compression d'image ou l'étude des secousses sismiques, on retrouve maintenant cette méthode de traitement dans le milieu biomédical. Les transformées en ondelettes sont utilisées dans la littérature de ce domaine de recherche pour deux principales applications : la compression du signal et la détection des PAs.

[Unser and Aldroubi, 1996] présente un récapitulatif des différentes applications biomédicales de la transformée en ondelettes. Ainsi, on les trouve dans l'étude des signaux obtenus par phonocardiographie (étude des ondes sonore provenant des battements du cœur), électrocardiographie (ECG), électroencéphalographie (EEG) ou pour des images biomédicales ([Khadra et al., 1993], [Dickhaus et al., 1994]). En ce qui concerne ces signaux, le taux de détection des PAs est supérieur à celui obtenu avec les méthodes conventionnelles présentées précédemment. Mais ce n'est pas sur ce type de PA, de forte amplitude, que la transformée en ondelettes

montre tout son potentiel. C'est avec des amplitudes de l'ordre du μV et un bruit pouvant aller jusqu'à recouvrir les PAs (SNR faible) que l'utilisation de la transformée en ondelettes sur des signaux neuronaux provenant d'électrode extra-cellulaires prend tout son sens et est largement utilisée ([Swendels, 1997], [Hulata et al., 2000], [Nakatani et al., 2001], [Addison, 2002], [Folkers et al., 2003], [Karel et al., 2005], [Lee and Kipke, 2006], [Yuning et al., 2010]). L'intérêt de cette méthode réside dans sa capacité de compression et d'extraction de forme dans le domaine temps-fréquence. Nous détaillerons ces aspects dans le chapitre suivant.

En ce qui concerne les expériences où le traitement est effectué en dehors de la chaîne d'acquisition (*off-line*) ([Lewicki, 1994], [Wickerhauser, 1994], [Kim and Kim, 2003], [Salmanpour et al., 2008], [Manjunath and Ravikumar, 2010], [Quotb et al., 2011]), l'utilité des ondelettes a été explorée et démontrée. Pour le traitement dans la chaîne d'acquisition (*on-line* et temps réel), les ondelettes font faces à un obstacle assez conséquent : elles impliquent une consommation en calcul et en mémoire très élevée. C'est pourquoi l'utilisation de la transformée en ondelettes en analogique [Gosselin et al., 2011] ou en numérique embarqué (FPGA, DSP) reste assez rare pour les traitements temps réel.

- [Imfeld et al., 2009] et [Fei et al., 2011] ont réalisé un neuroprocesseur capable de compresser et de détecter le signal ainsi que classer les signaux provenant d'un signal neuronal sur 32 canaux mesurés en parallèle. Le système utilise une architecture appelée DWT (Discrete Wavelet Transform) afin d'effectuer son pré-traitement, le seuillage est quant à lui calculé manuellement sans adaptation. Le principal résultat de ces travaux est la démonstration que les ondelettes sont un outil de compression remarquable et compatible avec des systèmes de transmission sans fil. Un autre aspect intéressant car non systématique est l'utilisation de vrais signaux biologiques (non-enregistrés) démontrant concrètement l'utilisation des ondelettes *on-line*.

- [Yuning et al., 2010] propose un système de détection de signaux neuronaux utilisant une autre architecture d'ondelette : SWT (Stationary Wavelet Transform) avec un seuillage adaptatif. Les résultats en terme de détection sont bons mais on peut regretter que ce système n'ait pas été prévu pour être utilisé en temps réel car la partie acquisition *on-line* n'est pas prise en compte.

- [Gosselin et al., 2011] propose un circuit intégré analogique, dont le schéma a été réalisé par l'auteur lors de son stage de Master, capable de calculer une DWT (Discrete Wavelet Transform). Ce système de détection est un des seuls systèmes calculant une transformée en ondelette de façon analogique et mérite d'être testé. D'un autre côté, l'utilisation de l'analogique ne permet pas la configurabilité du circuit, chose qui est très importante comme nous le verrons par la suite.

Par conséquent, du fait de leur capacité de détection en milieu bruité, la transformée en on-

I.3 L'électronique et la détection de PA par seuillage

delettes suivie d'un seuillage adaptatif semble être une méthode optimale pour notre utilisation. Cette technique de détection sera appelée dans la suite de la thèse *détection par ondelettes*. Comme nous l'avons vu, les signaux neuronaux et pancréatiques sont très souvent trop bruités pour qu'un simple seuillage soit efficace. Cette hypothèse devra être confirmée par la suite, en effet le ratio détection/consommation devra être suivi de près afin d'être sûr de ne pas surdimensionner notre outil de détection par rapport aux signaux observés.

Chapitre II

Structure du système

"to be or not to be, that is the question ?" William Shakespeare.

Après avoir pris connaissance des différentes composantes (vivant et électronique) qui dessinent le contour de cette thèse, nous allons présenter la structure du système retenue pour effectuer en temps réel une détection de signaux biologiques en milieu bruité. Avant la phase d'implémentation matérielle, nous devons d'une part choisir les éléments constitutifs de la structure de détection évoquée dans le chapitre I mais aussi d'autre part les évaluer afin de ne garder que les meilleurs. Un élément sera considéré comme meilleur lorsque le ratio du taux de détection de PAs en milieu bruité rapporté à la consommation de puissance et d'espace est optimale.

Par conséquent, nous étudierons dans un premier temps les aspects théoriques du pré-traitement choisi (figure I.15B). Ensuite nous exposerons notre stratégie de détection pour un seuillage en temps réel. Et enfin, la dernière partie sera dédiée à l'évaluation de notre structure de détection.

Les exemples applicatifs illustrant cette partie se rapportent à des signaux neuronaux. Dans un souci de concision et de clarté, nous n'avons pas présenté les résultats de la même étude menée dans le cas de signaux pancréatiques, dont les principes sont les mêmes que pour les signaux neuronaux.

1 Pré-traitement : La transformée en ondelettes ou la face cachée de la transformée de Fourier ?

Le développement des théories sous-jacentes à la transformée en ondelettes a débuté au début du siècle dernier avec les recherches de Alfred Haar. Toutefois, le concept d'ondelette ne fut introduit véritablement ([Flandrin, 1998]) que durant les années 1940, par les travaux notamment de Gabor [Gabor, 1946], Grossman et Morlet [Grossmann and Morlet, 1984], Daubechies

Chapitre II. Structure du système

[Daubechies, 1992], Meyer [Meyer and Ryan, 1993] et Mallat [Mallat, 1999]. L'appropriation des résultats des travaux de ces mathématiciens par les ingénieurs et chercheurs en quête de méthodes de traitement de signal toujours plus efficaces a entraîné l'écllosion ou l'amélioration de nombreuses applications dont plusieurs sont destinées à l'analyse des signaux biomédicaux.

La principale caractéristique d'une ondelette est son support compact, c'est-à-dire que la fonction d'ondelette est limitée à la fois dans les domaines du temps et de la fréquence. La fonction est donc considérée comme nulle à l'extérieur de ce support. Cette particularité a pour effet de localiser en temps et en fréquence le résultat de la transformée en ondelettes d'un signal. La transformée de signaux non stationnaires comportant des transitions rapides, par exemple des potentiels d'action, concentre leur énergie en quelques coefficients qui peuvent être vus comme la signature du potentiel d'action dans le domaine transformé [Unser and Aldroubi, 1996]. Le reste du signal, considéré comme du bruit, est réparti de façon plutôt régulière sur tous les coefficients. De cette façon, la transformée en ondelettes contribue à séparer le bruit du signal d'intérêt. Les coefficients moindres, attribués au bruit, peuvent ensuite être négligés lors de l'analyse du signal [Samar et al., 1999].

Le principe d'ondelette (CWT : Continuous Wavelet Transform) a été développé comme une approche alternative à la transformée de Fourier (STFT : Short Time Fourier Transform) pour surmonter un problème que l'on appelle "problème de résolution". L'analyse d'ondelette est faite d'une manière semblable à l'analyse de STFT, en ce sens que le signal est multiplié par une fonction, ondelette (wavelet), semblable à la fonction de fenêtre dans le STFT, et la transformation est calculée séparément pour différents segments du signal dans le domaine temporel. Cependant, elle permet une analyse multi-résolution (MRA : Multi Resolution Analysis) qui est conçue pour donner :

- une bonne résolution de temps et une faible résolution de fréquence aux hautes fréquences.
ET
- une bonne résolution de fréquence et une faible résolution de temps aux basses fréquences.

Cette approche a un sens particulièrement quand le signal réel a des composantes à haute fréquence pour des courtes durées et des composantes de basse fréquence pour de longues durées, ce qui est le cas pour des signaux neuronaux comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent.

1.1 L'analyse de Fourier

La transformée de Fourier (FT) d'un signal $x(t)$ s'exprime selon :

$$FT\{x(t)\} = X(\Omega) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t)e^{-j\Omega t} dt \quad (\text{II.a})$$

Où F est la fréquence en Hertz et $\Omega = 2\pi Ft$ est la phase en Radian.

La FT a la particularité d'être la représentation du contenu fréquentiel global d'un signal sur toute la période où il existe. Elle ne donne pas accès à la variation spectrale du signal durant cet intervalle de temps et fournit une image statique du contenu fréquentiel. Ce manque de précision locale est comblé par la STFT (Short Time Fourier Transform). Elle est obtenue en appliquant la FT sur des portions successives du signal grâce à une fenêtre glissante. Cette technique permet d'obtenir la variation spectrale du signal durant un intervalle de temps désigné par la fenêtre glissante. L'équation de la STFT est :

$$STFT_{g(\Omega,b)}\{x(t)\} = X_g(\Omega,b) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t)[\Psi_{\Omega,b}^*(t)] dt \quad (\text{II.b})$$

Où $g(t)$ est la fenêtre glissante et $\Psi_{\Omega,b}^*(t)$ est le composé de $\Psi_{b,t}(t) = g(t-b)e^{-j\Omega t}$.

Cette transformée peut être considérée comme la projection de $x(t)$ sur le panel de fonction $\Psi_{\Omega,b}^*(t)$ et tend à mettre en évidence les caractéristiques spectrales du signal autour d'une zone localisée par la paire de paramètres (b : indice de temps, Ω : indice de fréquence). Pour une paire (b, Ω) donnée, la fonction de base est localisée dans le plan temps-fréquence autour du point défini par cette paire. Les valeurs Δt et $\Delta \Omega$ sont définies par les équations II.c et correspondent respectivement à la résolution temporelle et fréquentielle.

$$\begin{aligned} \Delta t^2 &= \frac{m_2 - m_1^2}{m_0} \quad \text{où} \quad m_i = \int_{-\infty}^{\infty} t^i |\Psi_{\Omega,b}(t)|^2 dt \\ \Delta \Omega^2 &= \frac{M_2 - M_1^2}{M_0} \quad \text{où} \quad M_i = \int_{-\infty}^{\infty} \Omega^i |\Psi_{\Omega,b}(t)|^2 dt \end{aligned} \quad (\text{II.c})$$

De plus la STFT est limitée par le principe d'Heisenberg qui borne la résolution en temps-fréquence de la STFT :

$$\Delta \Omega \Delta t \geq 1/2 \quad (\text{II.d})$$

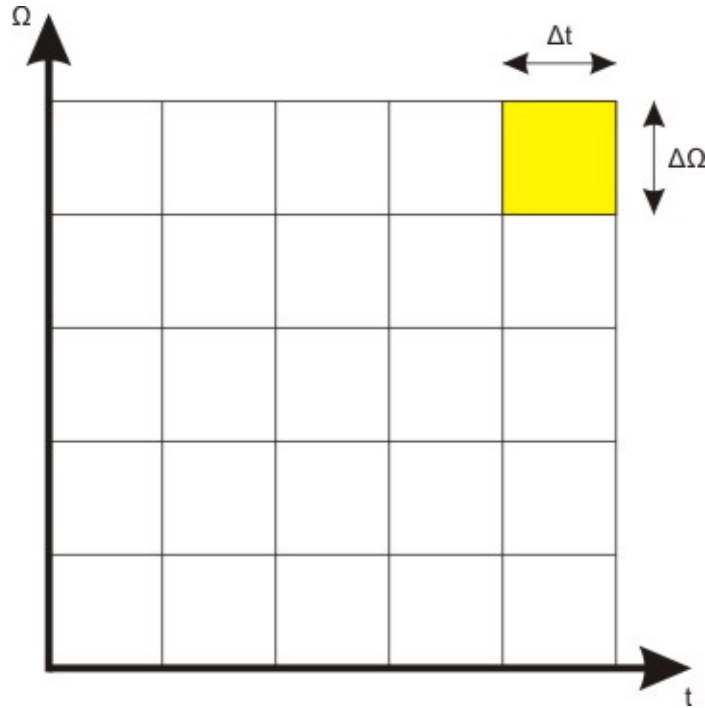


Figure II.1 – Découpage en atomes temps-fréquence pour la STFT

La meilleure résolution est acquise lorsque l'égalité est obtenue. Pour $\Psi_{\Omega,b}^*(t)$ cette égalité doit être obtenue en faisant varier $g(t)$ qui est une fonction gaussienne de la forme :

$$g_{\sigma}(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma}} e^{-\frac{t^2}{2\sigma^2}} \text{ avec } \Delta\Omega = \frac{1}{2\sigma} \text{ et } \Delta t = \sigma \quad (\text{II.e})$$

Ainsi avec la STFT, lorsque les valeurs de la fenêtre $\Delta\Omega$ et Δt sont choisies, elles le sont pour l'analyse entière. Le découpage en atomes de fréquence peut donc être représenté comme dans la figure II.1. On peut remarquer que la distribution temps-fréquence est uniforme partout dans le domaine temps-fréquence. De par l'utilisation d'une fenêtre de taille fixe, la SFTF ne nous permet pas de savoir précisément quelle composante spectrale existe à un instant donné. Le mieux qui peut être fait est de chercher quelles composantes spectrales existent sur un intervalle de temps donné, ce qui constitue un problème de résolution.

Nous sommes donc confrontés avec la STFT au dilemme suivant : si nous employons une fenêtre de longueur infinie, nous obtenons la FT, qui donne une résolution parfaite de fréquence, mais aucune information de temps. En outre, afin d'obtenir la stationnarité, nous devons avoir une fenêtre assez étroite, dans laquelle le signal est stationnaire. Plus la fenêtre est étroite, meilleure est la résolution de temps ; et plus la marge sur l'hypothèse de la stationnarité est bonne, plus la résolution de fréquence est pauvre :

II.1 Pré-traitement : La transformée en ondelettes ou la face cachée de la transformée de Fourier ?

- Fenêtre étroite \Rightarrow bonne résolution temporelle, mauvaise résolution fréquentielle.
- Fenêtre large \Rightarrow bonne résolution fréquentielle, mauvaise résolution temporelle.

Pour résumer, la STFT est très bien si le signal étudié est stationnaire car dans ce cas là, il suffit de fixer l'échelle adéquate pour étudier le signal. Mais si le signal est non-stationnaire, l'échelle fixe n'est plus d'actualité et il faut trouver une autre solution.

1.2 La transformée en ondelette continue : Au coeur d'une analyse multi-résolution

La transformée en ondelette continue (CWT) a été développée comme une alternative au problème de résolution rencontré par la STFT. Comme nous l'avons vu dans le premier chapitre, une telle analyse multi-résolution est notamment nécessaire afin d'étudier des PAs.

La transformée en ondelette continue (CWT) est définie par cette équation :

$$X_{\Psi}(a, b) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t) * \Psi_{a,b}(t) dt \quad \text{avec} \quad \Psi_{a,b}(t) = \frac{1}{\sqrt{a}} * \Psi\left(\frac{t-b}{a}\right) \quad (\text{II.f})$$

Où $a \in \mathbb{R}^+$, $b \in \mathbb{R}$ sont respectivement le facteur de dilatation et le facteur de translation, et $\Psi(t)$ la fonction appelée ondelette mère.

Une base d'ondelette est formée d'une ondelette mère qui est une fonction de moyenne nulle et de support compact, dilatée ou compressée (facteur de dilatation : a) et translatée afin de couvrir tout le domaine de la fonction décomposée (facteur de translation : b). Ce facteur détermine sur quel intervalle du domaine de définition de la fonction on se place (notion de temps) alors que le facteur de dilatation calibre le domaine fréquentiel. Par conséquent, la CWT procède à une décomposition en temps mais aussi en fréquence. L'ondelette mère est un paramètre crucial comme nous le verrons par la suite. Un large panel d'ondelettes mères existe, la figure II.2 propose les allures des ondelettes les plus connues.

Le calcul de la CWT consiste donc à multiplier le signal par l'ondelette mère en utilisant différentes valeurs pour les coefficients (a) et (b). À mesure que la largeur (a) de la fenêtre augmente, la transformée commence à sélectionner les composantes de plus basses fréquences. En conséquence, pour chaque échelle et pour chaque intervalle de temps, un point du plan temps-échelle est calculé. Les calculs à une échelle donnée construisent les lignes du plan temps-échelle, et les calculs à différentes échelles construisent les colonnes du plan échelle-temps. On obtient donc le découpage en atomes présenté en figure II.3.

Chaque case correspond à une valeur de la CWT dans le plan temps-fréquence. Remarquez

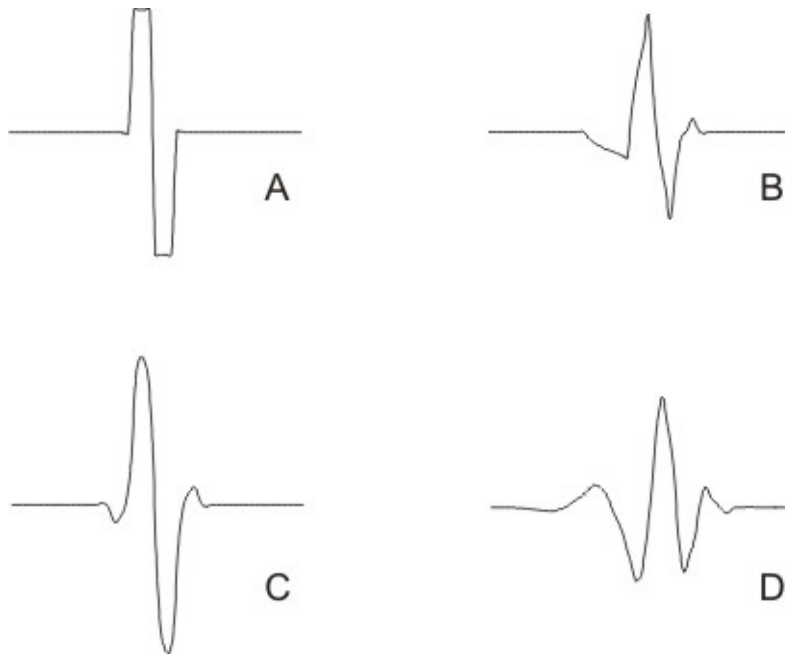


Figure II.2 – Exemples d’ondelettes mères normalisée : A) Haar, B) Symlet2, C) Biorthogonal 1.3 et D) Daubechies4

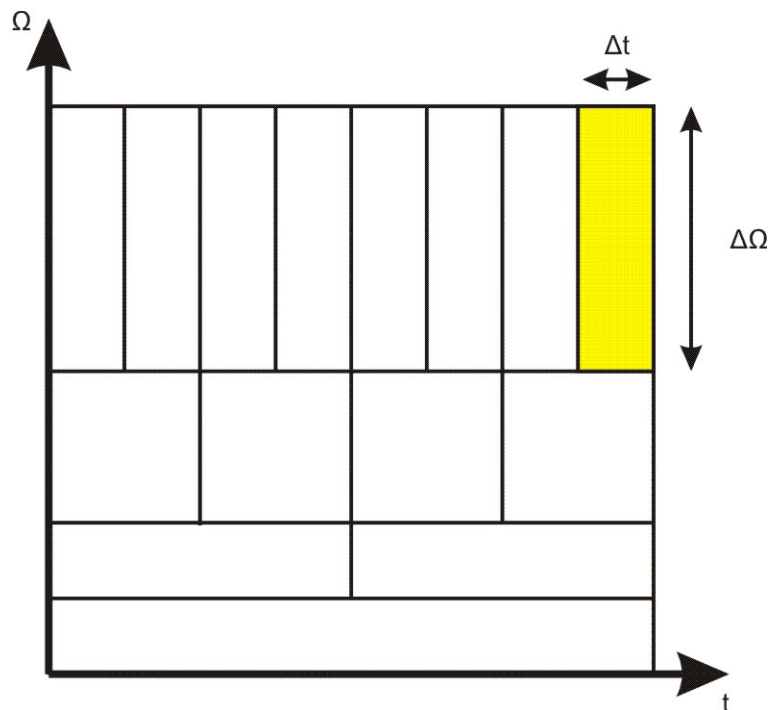


Figure II.3 – Découpage en atomes temps-fréquence pour la CWT

II.1 Pré-traitement : La transformée en ondelettes ou la face cachée de la transformée de Fourier ?

que les cases possèdent certaines surfaces constantes non nulles qui impliquent que la valeur d'un point particulier dans le plan temps-fréquence ne peut pas être connue. Tous les points dans ce plan qui tombent dans une case sont représentés par une seule valeur sur la CWT.

Ainsi :

- Aux basses fréquences, les hauteurs des cases sont plus faibles (ce qui correspond à de meilleures résolutions de fréquence, puisqu'il y a moins d'ambiguïté concernant la valeur exacte de la fréquence), mais leurs largeurs sont plus élevées (ce qui correspondent à la résolution faible de temps, puisqu'il y a plus d'ambiguïté concernant la valeur exacte du temps).
- À des fréquences plus élevées la largeur des cases diminue, i.e., la résolution de temps est meilleure, et la hauteur des cases augmente. La résolution de fréquence devient plus faible.

Cette caractéristique est le signe qu'une analyse CWT est une analyse multi-résolution. En conclusion, l'analyse CWT est tout à fait désignée afin d'étudier des signaux neuronaux car contrairement à la STFT, elle propose une analyse multi-résolution nécessaire à l'étude des signaux neuronaux dans un environnement très bruité.

En termes d'implémentation matérielle, le contexte des différents projets de recherche ainsi que le savoir faire de notre équipe nous a poussé vers une question cruciale : être analogique ou ne pas être ? L'implémentation des ondelettes en analogique est une méthode très peu répandue. Nous avons pu nous y confronter durant notre stage de Master et il est de toute évidence très difficile d'utiliser les ondelettes en analogique car leur implémentations comporte beaucoup d'inconvénients :

- La difficulté d'établir une fonction de transfert d'ordre facilement implantable d'une ondelette mère. En effet, pour implémenter une ondelette mère en analogique on doit connaître sa fonction mathématique qui nous mènera à l'établissement d'une fonction de transfert. Or cette fonction de transfert est très souvent d'ordre très élevé même après une approximation ([Akansu, 1994], [Edwards and Cauwenberghs, 1995], [Haddad et al., 2004]). Ce défaut engendre des filtres d'ordre très élevés difficilement implantables en analogique.
- Le manque de reconfigurabilité de la méthode analogique. Un circuit est spécifique à une ondelette mère donnée.
- La consommation. Des calculs de consommation de la CWT ont été effectués dans [Simard, 2004] et ont montré que la CWT est quatre fois plus consommatrice en puissance qu'un calcul en ondelette en numérique.

Par conséquent en terme d'implémentation la CWT ne semble pas être le meilleur moyen,

voyons du côté numérique.

1.3 Transformée en ondelette discrète

Une des méthodes des plus fiables et simples en matière de transformée en ondelette numérique est la transformée appelée "transformée en ondelettes discrète" ou "discrete wavelet transform" (DWT). Cette méthode est basée sur un algorithme pyramidal, et plus précisément sur une décomposition d'une banque de filtres sur une base orthogonale. Cette décomposition est réalisée par un calcul de convolution à un niveau j entre un signal original $x[n]$ et deux filtres : un passe-haut (G) qui calcule $d^j[n]$ (appelé "coefficient de détail") et un passe-bas (H) qui calcule $a^j[n]$ (appelé "coefficient d'approximation") représentant les sorties du calcul en ondelette. Ce calcul entre G et H est présenté dans les équations II.g et II.h :

$$d^j[n] = \sum_{k=0}^L g^j[k] \times a^{j-1}[n-k] \quad (\text{II.g})$$

$$a^j[n] = \sum_{k=0}^L h^j[k] \times a^{j-1}[n-k] \quad (\text{II.h})$$

Où L représente l'ordre des filtres, généralement entre 2 et 8, j le niveau de décomposition et n le numéro d'échantillon. $g[k]$ et $h[k]$ correspondent respectivement aux coefficients des filtres passe-haut et passe-bas (voir tableau A1.1 en annexe 1) ([Meyer and Ryan, 1993], [Coifman et al., 1992], [Strang and Nguyen, 1996], [Mallat, 1999]). Nous pouvons noter que les coefficients d'approximation ou ceux de détail à un niveau j dépendent seulement des coefficients d'approximation au niveau $(j-1)$. Contrairement au domaine continu où l'ondelette mère était définie par une équation mathématique continue, en numérique, l'ondelette mère est composée par un jeu de deux filtres (G et H). Le choix de l'ondelette mère doit être fait soigneusement car l'analyse en ondelette est une analyse certes fréquentielle, mais aussi temporelle. En général, plus la forme de l'ondelette mère est proche du signal (par exemple le PA) à détecter, plus la détection est facile.

Le principal problème de la DWT réside dans le fait que c'est une transformée qui n'est pas invariante par rapport au temps, ce qui veut dire qu'une variation temporelle dans le signal d'entrée va produire différents jeux de coefficients ([Salmanpour et al., 2008]) du fait du sous-échantillonnage. Comme illustré dans la figure II.4, chaque niveau de décomposition correspond à un filtre passe-bande dont les fréquences normalisées sont dans l'intervalle $[1/4; 1/2] * 2^{-j}$.

La transformée en ondelettes stationnaire (SWT) va résoudre ce problème en omettant le

II.1 Pré-traitement : La transformée en ondelettes ou la face cachée de la transformée de Fourier ?

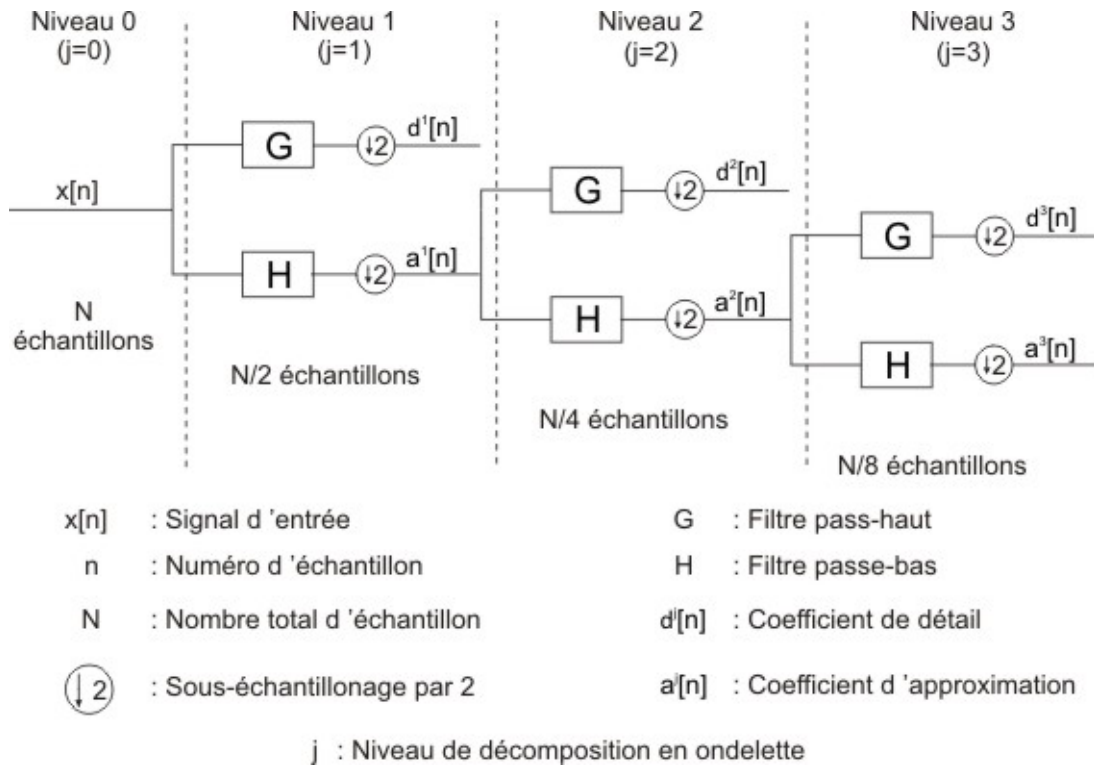


Figure II.4 – Décomposition en DWT sur 3 niveaux

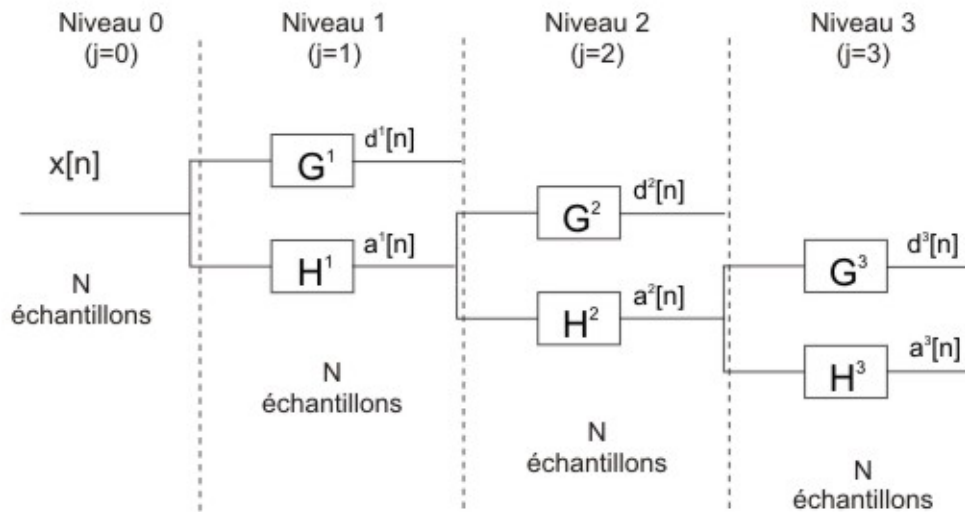
sous-échantillonnage par deux. Ainsi, les coefficients d'approximations et de détails auront le même nombre d'échantillons que le signal d'entrée. La SWT d'un signal avec N échantillons fournira des coefficients d'approximation et de détail avec N échantillons à chaque niveau de décomposition. La redondance des résultats aura pour effet d'augmenter le niveau de précision de la détection. La figure II.5 représente la décomposition de la SWT sur 3 niveaux.

Contrairement à la DWT où tous les coefficients des filtres étaient identiques (tableau A1.1) selon le niveau de décomposition, la SWT propose des filtres de tailles différentes grâce au sur-échantillonnage (figure II.5). Un exemple avec l'ondelette de Haar est présent dans le tableau A1.2. Par conséquent, un signal d'entrée avec N échantillons donne des coefficients d'approximation et de détail de longueur N à chaque niveau de décomposition rendant le signal de sortie plus précis que celui obtenu avec une DWT (figure II.5).

La différence de discrimination des PAs entre la SWT (figure I.8.C) et la DWT (figure I.8.D), sera précisée dans la section évaluation de la structure de détection. En terme d'implémentation il existe plusieurs types d'architectures [Dumortier, 2005].

- L'algorithme pyramidal proposé dans la figure II.5 qui reste l'algorithme basique.
- L'algorithme polyphase.

Etapas de décompositon en SWT



Sur - échantillonnage des coefficients des filtres

$$\left\{ \begin{array}{l} g^{j+1}[2k] = g[k] \\ g^{j+1}[2k+1] = 0 \end{array} \right.$$

$$\left\{ \begin{array}{l} h^{j+1}[2k] = h[k] \\ h^{j+1}[2k+1] = 0 \end{array} \right.$$

$x[n]$: Signal d'entrée

- | | |
|---|--|
| k : Nombre de coefficients du filtre | N : Nombre total d'échantillon |
| n : Numéro d'échantillon | j : Niveau de décomposition |
| G^j : Filtre passe-haut au niveau j | H^j : Filtre passe-bas au niveau j |
| $g[k]$: Coefficient du filtre passe-haut au niveau j | $h[k]$: Coefficient du filtre passe-bas au niveau j |
| $d^j[n]$: Coefficient d'approximation au niveau j | $a^j[n]$: Coefficient d'approximation au niveau j |

- L'algorithme lifting.
- L'algorithme lattice.

Dans un premier temps, notre choix s'est porté sur l'algorithme pyramidal de base malgré le fait qu'il soit réputé consommateur de ressources comparé aux autres architectures. En effet, notre but final est la réalisation de toute la chaîne d'acquisition, de traitement et d'extraction des résultats. Nous avons voulu donc aller à l'essentiel avec l'algorithme pyramidal afin de ne pas être retardé par une implémentation trop complexe. Mais comme nous allons le démontrer dans nos résultats, en optimisant notre procédé de calcul et nos machines d'état, la consommation de ressources peut être réduite et être comparable à celle des autres architectures.

En ce qui concerne le matériel, notre choix d'implémentation s'est porté sur un FPGA. Avec leurs mémoires embarquées (type RAM), les FPGAs nous sont apparus comme une évidence. De plus, le calcul en ondelettes consiste en de simples additions et multiplications associées à une mémoire vive. Ce type d'interface a le mérite d'avoir un temps de développement court mais aussi une reconfigurabilité accrue que l'on n'aurait jamais eu avec une implémentation analogique. Par exemple, en changeant simplement les coefficients des filtres on obtient telle ou telle ondelette mère.

Une autre implémentation numérique telle que l'utilisation d'un DSP (Digital Signal Processor) n'a pas été envisagée. En effet, comme nous le verrons par la suite, le but du système n'est pas seulement de faire un calcul en ondelette mais aussi de contrôler, en même temps, différents périphériques externes (cartes de stockage, ADCs, écran *etc...*). Cette multiplication des tâches en parallèle aurait été compliquée par l'utilisation d'un contrôleur séquentiel tel qu'un DSP. De plus, notre objectif final est de pouvoir à partir de la plateforme existante, fabriquer un ASIC afin de pouvoir l'implémenter. Cette tâche est possible à partir du VHDL car des outils de synthèse existent mais difficilement à partir d'une autre implémentation.

2 Stratégie de détection

Notre stratégie finale pour une détection des PAs sur la chaîne d'acquisition (*on-line*) et en temps réel est d'implémenter un étage de pré-traitement (transformée en ondelettes) qui va amplifier les PAs et atténuer le bruit, suivi d'un seuillage adaptatif qui va discriminer les PAs. Notre méthode de seuillage adaptatif s'inspire de la méthode que Harrison [Harrison, 2003] a développé en analogique et dont le principe découle de l'automatique. Le principe général pour calculer un seuil de façon automatique est de calibrer ce seuil par rapport à l'écart type (σ) du signal, qui lui-même évalue le niveau de "bruit", en prenant l'hypothèse que le signal étudié

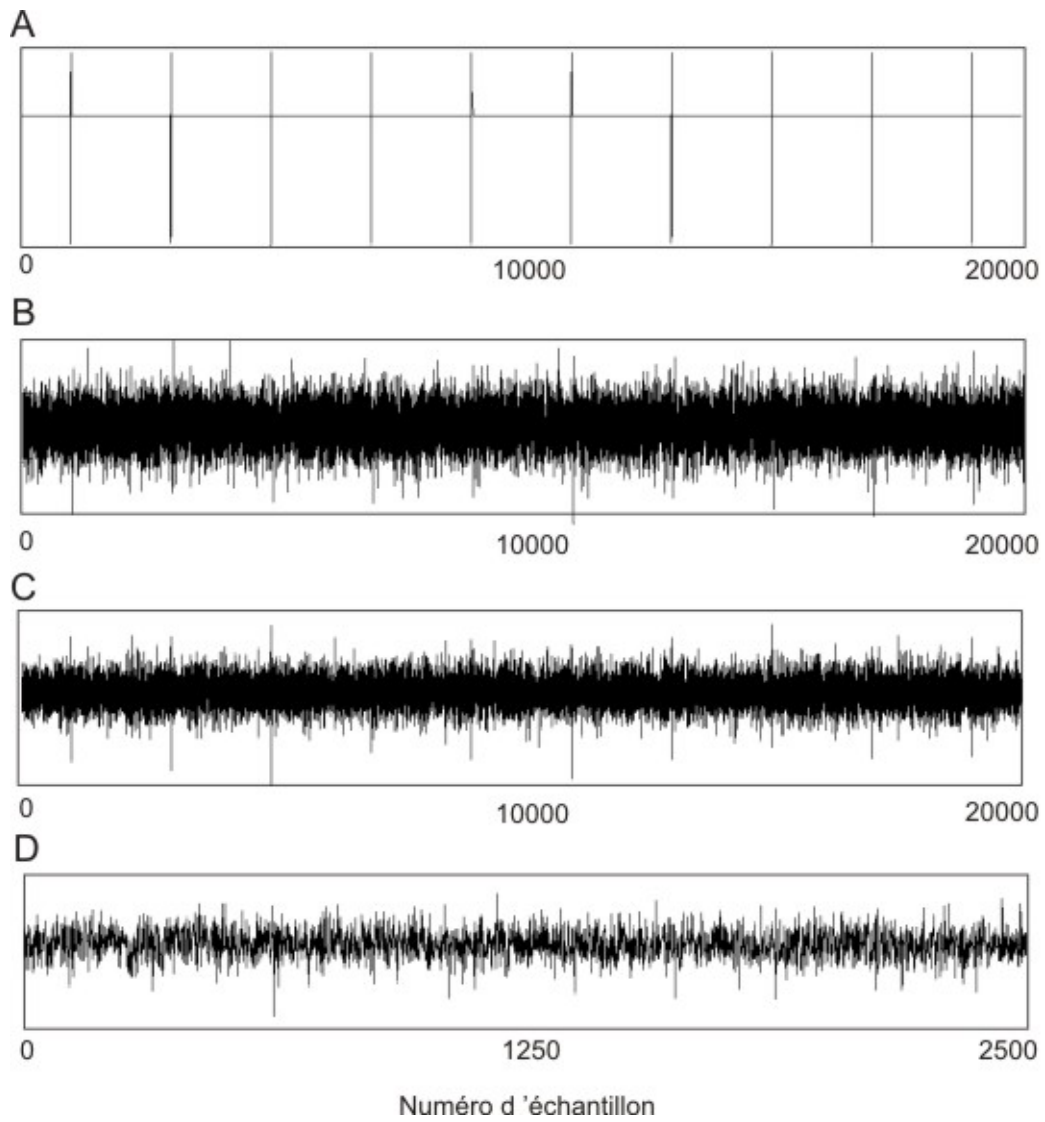


Figure II.6 – Décomposition en ondelette d'un signal neuronal : A) Localisation des spikes, B) signal d'origine $x[n]$, C) troisième niveau de décomposition SWT $d^3[n]$ et D) troisième niveau de décomposition DWT $d^3[n]$.

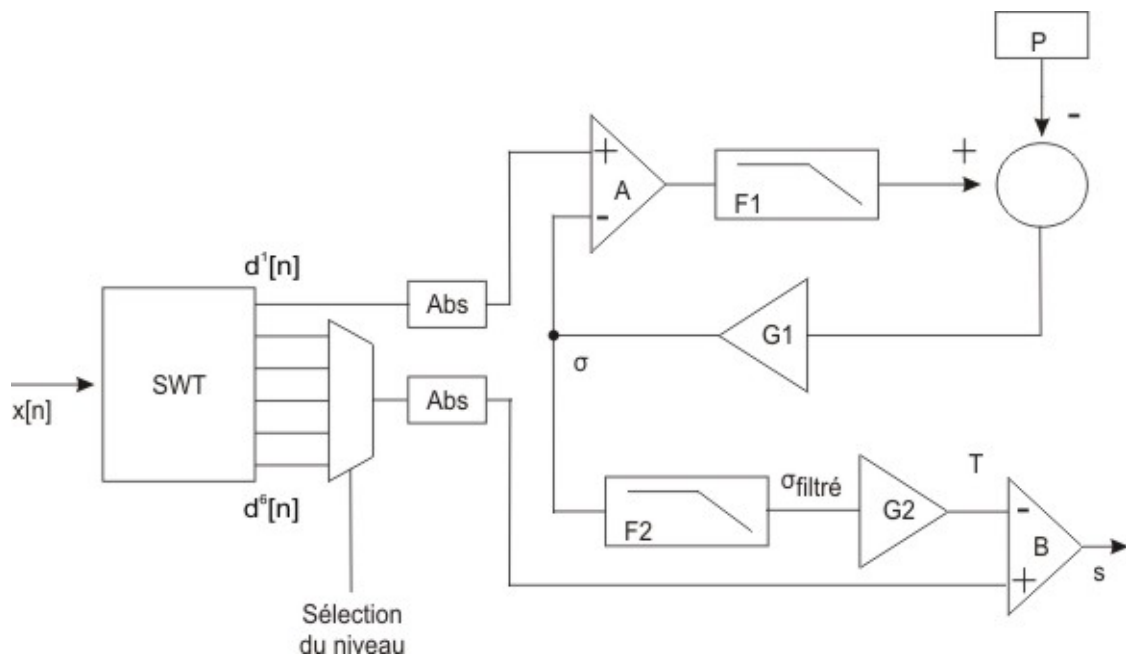


Figure II.7 – Bloc de détection en ondelette

présente une distribution gaussienne. Pour cela, on utilise une boucle de rétrocontrôle qui va être asservie vis-à-vis d'une référence dont l'écart type est connu. Cette référence provient du fait que, pour un bruit blanc gaussien, si un seuil est fixé à σ il y a 0,159% de chance qu'un échantillon (ou 0,318% pour que sa valeur absolue) soit au-dessus de ce seuil. Par conséquent le calcul de σ passe par plusieurs étapes.

- Etape 1 : comparaison du σ estimé avec chaque échantillon du signal d'entrée
- Etape 2 : calcul de la valeur moyenne en sortie du comparateur de l'étape 1
- Etape 3 : calcul de la différence entre cette moyenne et la référence 0,318 ou 0,159
- Etape 4 : ré-évaluation du σ et retour à l'étape 1

Un schéma du module de détection en ondelettes suivi d'un module de calcul du seuil adaptatif est présenté en figure II.7. Le bloc d'ondelette fournit au bloc de seuillage le premier niveau de détail d^1 ainsi que le niveau de détail extrayant le mieux les PAs d^k . σ est estimé dynamiquement sur le premier niveau de détail en utilisant une boucle de rétrocontrôle. Dans notre système, le rôle du seuillage adaptatif est de suivre la variation du bruit sans prendre en compte la variation du continu. En effet, nous pouvons noter que nous utilisons d^1 au lieu du signal d'origine car il est obtenu après un filtre passe-haut qui ne garde que les composantes de hautes fréquence du signal. Grâce à cela les variations lentes du signal sont enlevées et le seuil ne réagira qu'à la variation du bruit.

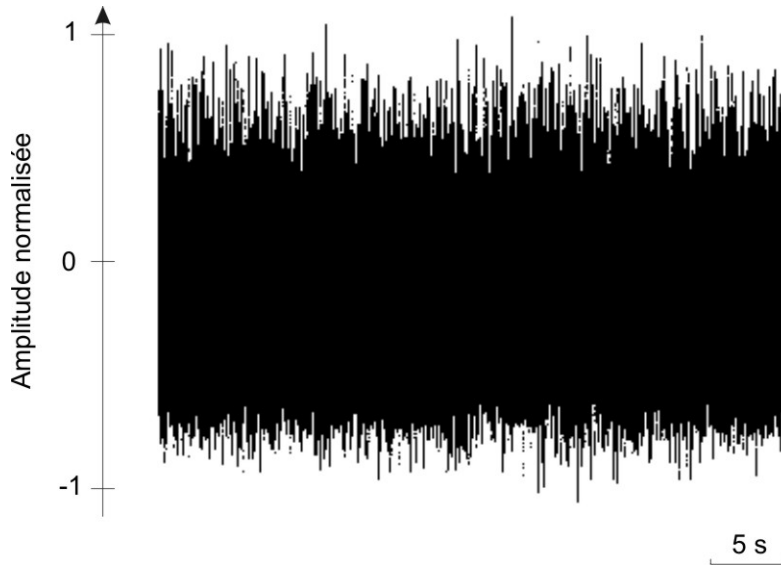


Figure II.8 – Bruit enregistré par l’intermédiaire d’un MEA sur des cellules pancréatiques

A l’intérieur de la boucle, le signal et le σ estimé sont comparés par le comparateur A. La sortie de A est une pulsation binaire qui est une représentation linéaire du ratio d’échantillons au-dessus du σ estimé. Le filtre passe-bas (F1) en extrait la valeur moyenne. La différence amplifiée par G1 entre cette valeur et une référence P, est renvoyée au comparateur A. Ce signal est une estimation de l’écart type courant. L’utilisateur fixe la référence P selon l’approximation gaussienne du signal biologique. Pour un bruit blanc gaussien la probabilité que la valeur absolue d’un échantillon soit au dessus de σ est de 0,318. Dans ce cas là, la référence à fixer est de 0,318 conformément à [Addison, 2002]. On utilise la valeur absolue des échantillons afin de réduire les contraintes sur le filtre passe-bas F1. Vérifions cette hypothèse par l’exemple. La figure II.8 propose le bruit enregistré par l’intermédiaire d’un MEA sur des cellules pancréatiques. En calculant l’écart type de la valeur absolue de ce signal grâce à MATLAB nous obtenons un écart type de 0,35756 très proche de la référence théorique. Ensuite, après un filtre passe-bas F2 qui stabilise sa valeur ($\sigma_{filtré}$), le seuil T est calculé selon l’équation II.i, où G2 est un gain défini par l’utilisateur selon son expérience avec les signaux biologiques. En d’autres termes on règle G2 afin de se trouver plus ou moins proche du niveau de bruit [Watkins et al., 2004].

$$T = G2 * \sigma_{filtré} \quad (\text{II.i})$$

Tableau II.1 – Coefficients des filtres passe-bas (F1 et F2)

	Valeur décimale	Valeur binaire
K	0,003112792968750	00.00000000110011
w_p	1	01.00000000000000
w_z	-0,99371337890625	11.00000001100111

La fonction de transfert des filtres F1 et F2 est :

$$H(z) = K * \frac{1 + w_z z^{-1}}{1 + w_p z^{-1}} \quad (\text{II.j})$$

H est un filtre passe-bas de Butterworth avec une fréquence de coupure de 10 Hz pour une fréquence d'échantillonnage de 10 kHz. En vue d'une implémentation FPGA, les paramètres de H sont encodés en 16 bits avec virgule fixe. Les coefficients ont été calculés à partir de l'utilitaire de création de filtre sous MATLAB (FDATTOOLS) en fixant les différents paramètres du filtre et sont présentés dans le tableau II.1. Afin que ce calcul du seuil soit juste, nous avons supposé que le bruit était Gaussien comme cela est le cas généralement pour les signaux biologiques. Si cela n'est pas le cas une analyse du signal biologique doit être effectuée au préalable afin de fixer la référence P et G1.

3 Evaluation de la structure du système

Nous venons de présenter les différentes méthodes que nous souhaitons utiliser dans notre système, il faut maintenant valider les différentes propositions. Pour cela, nous avons développé sous MATLAB un modèle de notre système qui va nous servir notamment à tester différentes configurations et ainsi les évaluer. Nous allons comparer différentes méthodes pour la détection des PAs sur différents signaux neuronaux. Dans un premier temps nous allons présenter les matériels et méthodes qui nous ont servi afin de caractériser notre système, pour ensuite présenter nos résultats de simulation.

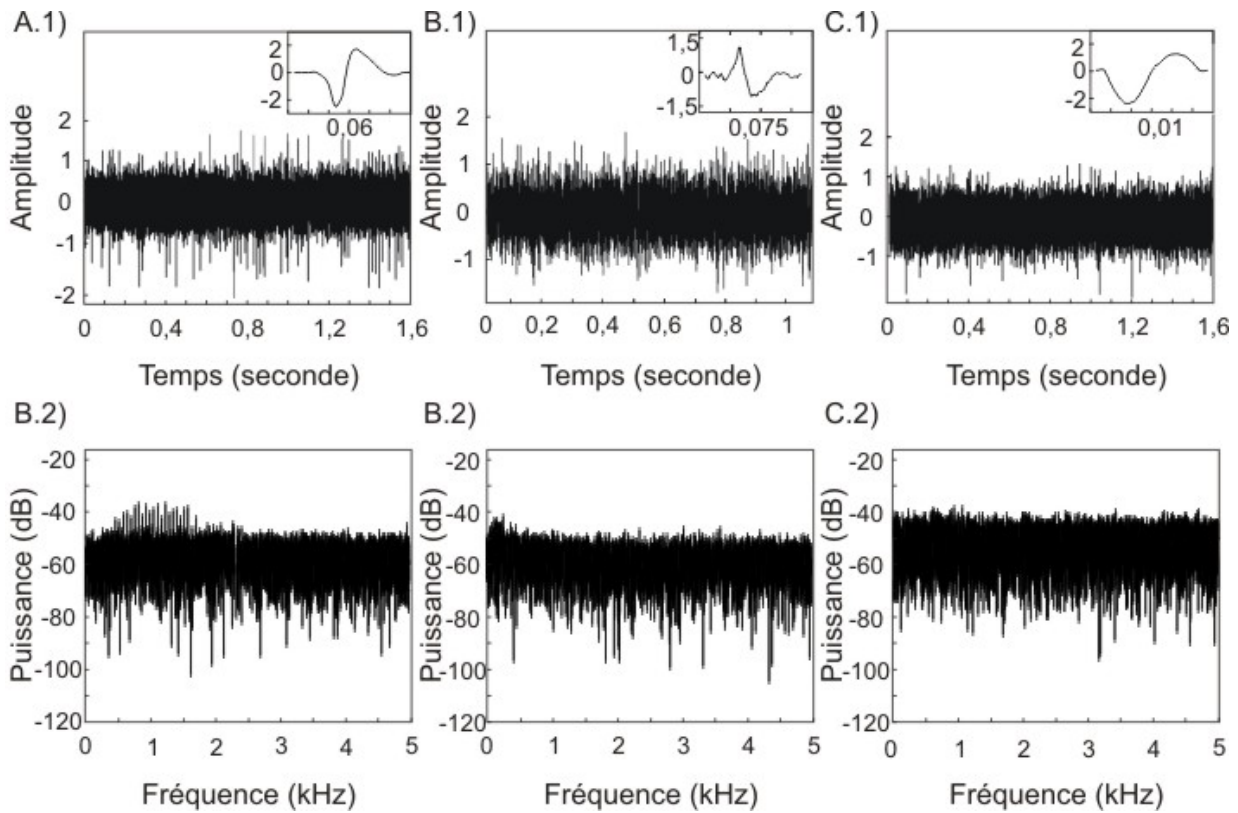


Figure II.9 – Trois types de signaux neuronaux artificiels d’une durée comprise entre 1 s et 1,6 s avec un SNR de 5 et différents PAs. A) 50 PAs provenant d’un enregistrement de signaux neuronal de singe [Boraud et al., 2005] mesuré *in vivo*, B) 18 PAs : créés artificiellement et provenant de [Quiroga et al., 2004], C) 10 PAs : créés artificiellement et provenant de [Nenadic and Burdick, 2005]. Figures du haut : signal en fonction du temps ; forme d’onde des PAs. Figures du bas : Densité de puissance spectrale correspondante.

3.1 Matériels et méthodes

Afin de faire une comparaison quantitative et qualitative des différentes méthodes, nous avons effectué nos tests sur des signaux neuronaux artificiels où la forme et la localisation temporelle des PAs sont connues parfaitement. Trois types de signaux neuronaux utilisés lors de cette étude sont présentés en figure II.9. La création des signaux neuronaux sous MATLAB se déroule en trois étapes :

- On définit la forme du PA que l’on utilise dans notre signal de test artificiel (qui est spécifique pour chaque signal). Deux PAs artificiels sont inspirés de la littérature : figure II.9.B ([Quiroga et al., 2004]) et figure II.9.C ([Nenadic and Burdick, 2005]). Le troisième

II.3 Evaluation de la structure du système

PA (figure II.9.A) a été enregistré de façon *in vivo* à partir du cortex cérébral d'un singe *Macaca Mulatta* au repos avec des microélectrodes en tungstène (impédance 0,5 MΩ à 1 kHz) à une fréquence de 10 kHz.

- La seconde étape consiste à créer un signal ($x[n]$) où les PAs apparaissent de façon aléatoire avec différentes amplitudes.
- En ajoutant finalement un bruit blanc Gaussien selon la formule II.k, nous obtenons un signal neuronal artificiel ($y[n]$) avec un SNR bien défini.

$$y[n] = x[n] + \chi[n] * K \quad (\text{II.k})$$

K est un coefficient choisi pour obtenir un SNR spécifique. n est le numéro d'échantillon. χ est une séquence pseudo-aléatoire dont la distribution est centrée sur 0 avec une variance de 1. Le SNR est calculé selon l'équation II.l qui est une adaptation de l'équation générale du SNR II.m. De par la durée très courte des PAs, il n'est pas possible d'utiliser l'équation II.l qui ne prend pas en compte les PAs. L'équation II.m amplifie le poids des PAs dans le calcul du SNR et ainsi on obtient un SNR qui prend mieux en compte l'occurrence des PAs.

$$SNR = 10 \log \left(\frac{\sum x[n]^2}{\sum y[n]^2} \right) \quad (\text{II.l})$$

$$SNR = 10 \log \left(\frac{\sum spike[n]^2 * \frac{length(x)}{length(s)}}{\sum y[n]^2} \right) \quad (\text{II.m})$$

spike correspond à la forme du PA, $x[n]$ au signal ne comportant que les PAs, $y[n]$ au signal comportant les PAs et le bruit comme défini dans l'équation II.k et $length(x[n])$ désigne la longueur du signal $x[n]$.

Nous avons effectué des simulations avec des valeurs de SNR différentes : de 0 à 10 dB par pas de 1 dB. La figure II.9 montre des exemples de signaux neuronaux artificiels avec un SNR de 5 dB et des formes de PAs différentes. Le nombre de PAs varie d'un signal à l'autre : 50 PAs dans la figure II.9A, 18 PAs dans la figure II.9B et 10 PAs dans la figure II.9C avec aucun recouvrement entre les PAs. Pour compléter la caractérisation des signaux, nous avons calculé et représenté la densité de puissance spectrale de chaque signal. Ainsi, on peut noter que les différents spectres ne présentent aucune raie significative trahissant la présence de PAs ($f > 200$ Hz) ; c'est pourquoi une simple analyse de Fourier n'est pas suffisante pour détecter les PAs.

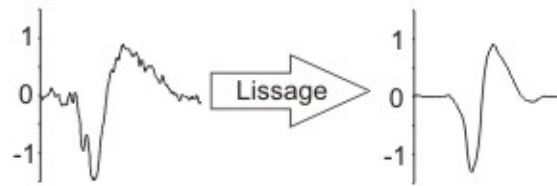


Figure II.10 – Lissage d'un PA

Les différents PAs incorporés dans le signal sont échantillonnés à 10 kHz et doivent être débruités car un bruit Gaussien est ensuite ajouté. Cette caractéristique doit être vraiment respectée pour la bonne continuité de notre analyse. Pour cela, nous avons appliqué au PA avant son incorporation dans le signal un lissage par la méthode de la valeur médiane comme présenté dans la figure II.10. En vue de classer les différents algorithmes de détection de PA pour une future implémentation matérielle, nous avons suivi le protocole suivant :

Tout d'abord, la méthode pour calculer le seuil doit être évaluée. Nous ne savons pas *à priori* à partir de quel niveau d'ondelette il faut appliquer le seuil afin d'obtenir une détection correcte. Ensuite, il est utile de comparer les méthodes de détection présentées dans le chapitre 1 (seuillage brut, DWT et SWT). Le résultat de détection de chaque méthode est important, mais nous prendrons aussi en compte le nombre d'opérations nécessaires pour chacune d'entre elles afin de réduire le coût d'implémentation estimé sur circuit intégré. Enfin, nous mettrons en évidence l'impact du choix de l'ondelette mère sur le résultat de détection. D'autre part, nous avons implémenté deux configurations pour chacune des ondelettes mères étudiées afin de voir si en simplifiant le niveau de précision des coefficients des filtres H et G (en passant de 10 digits à 2 digits de précision), on peut réduire le coût d'implémentation de la transformée en ondelettes.

3.2 Résultats

Cette partie va dévoiler les résultats de notre stratégie de détection expliquée dans la partie précédente. Plusieurs points ont été abordés :

- Niveau de décomposition : Comme le montre la figure II.11, les différents niveaux de décomposition n'ont pas la même allure et d'un niveau à l'autre, le résultat peut différer. Afin de fixer un niveau pour la détection, nous avons simulé la réponse de notre méthode de détection en appliquant le seuil à différents niveaux de décomposition. Les résultats sont présentés figure II.12.

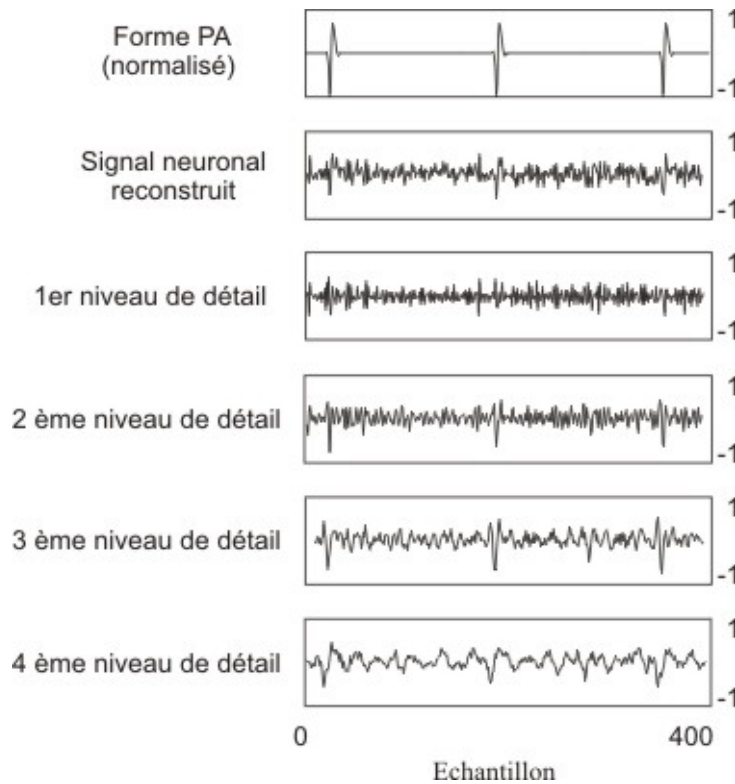


Figure II.11 – Décomposition en ondelette stationnaire du signal provenant des PAs de singe en figure II.9A

Les résultats montrent que pour une SWT avec un signal neuronal échantillonné à 10 kHz, le pourcentage de détection correcte est le meilleur quand on applique le seuil sur le troisième niveau de décomposition. En termes de coût d'opération, celui du troisième niveau est trois fois plus élevé que celui du premier. Si l'on modifie la fréquence d'échantillonnage, on se rend compte qu'au-dessus de 17 kHz, le niveau 4 devient plus intéressant ce qui est normal puisque la réponse des filtres est dépendante de la fréquence d'échantillonnage. Le niveau 3 reste compétitif pour des fréquences d'échantillonnage comprise entre 8,5 et 14 kHz, ce qui est tout à fait compatible avec les caractéristiques des signaux biologiques.

- Méthode de pré-traitement : Nous avons comparé trois méthodes, le seuillage brut (sans transformation), la DWT et la SWT. La figure II.13 présente les résultats de détection. En termes d'efficacité de détection, la SWT est très clairement la meilleure méthode de détection pour tous les signaux étudiés. Du côté calcul algorithmique, si nous considérons qu'un niveau de décomposition en ondelette coûte une unité, le coût de la DWT est de 1,75 ressources à cause du facteur de sous-échantillonnage (1 pour le premier niveau,

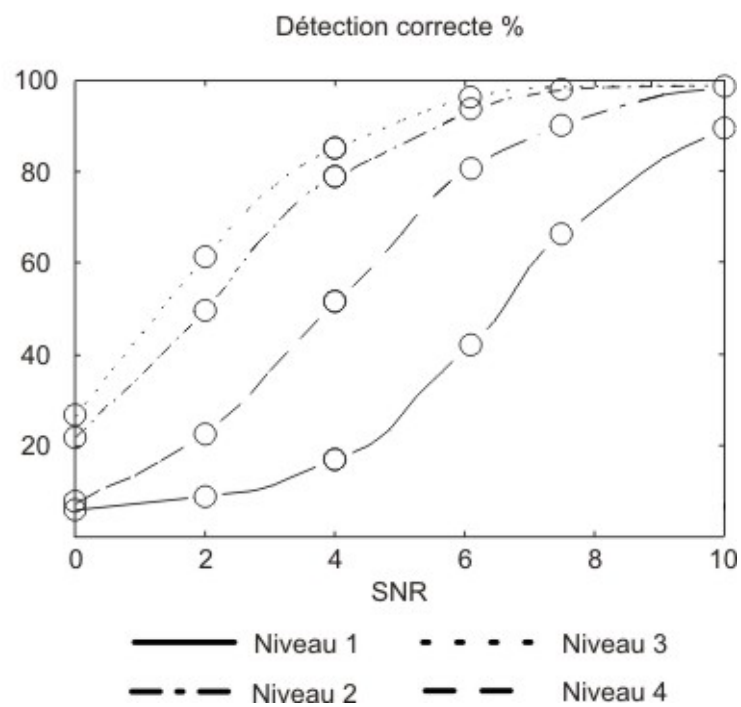


Figure II.12 – Taux de détection pour différents niveaux de décomposition où le seuil est appliqué. Nous avons utilisé la SWT et l’ondelette mère Haar. La barre d’erreur maximale est de 0,93 % (non représentée) ; la valeur p (indiquant la probabilité que les résultats obtenus puissent être attribués au seul fait du hasard) et les faux positifs sont négligeables. ([Raoux et al., 2012])

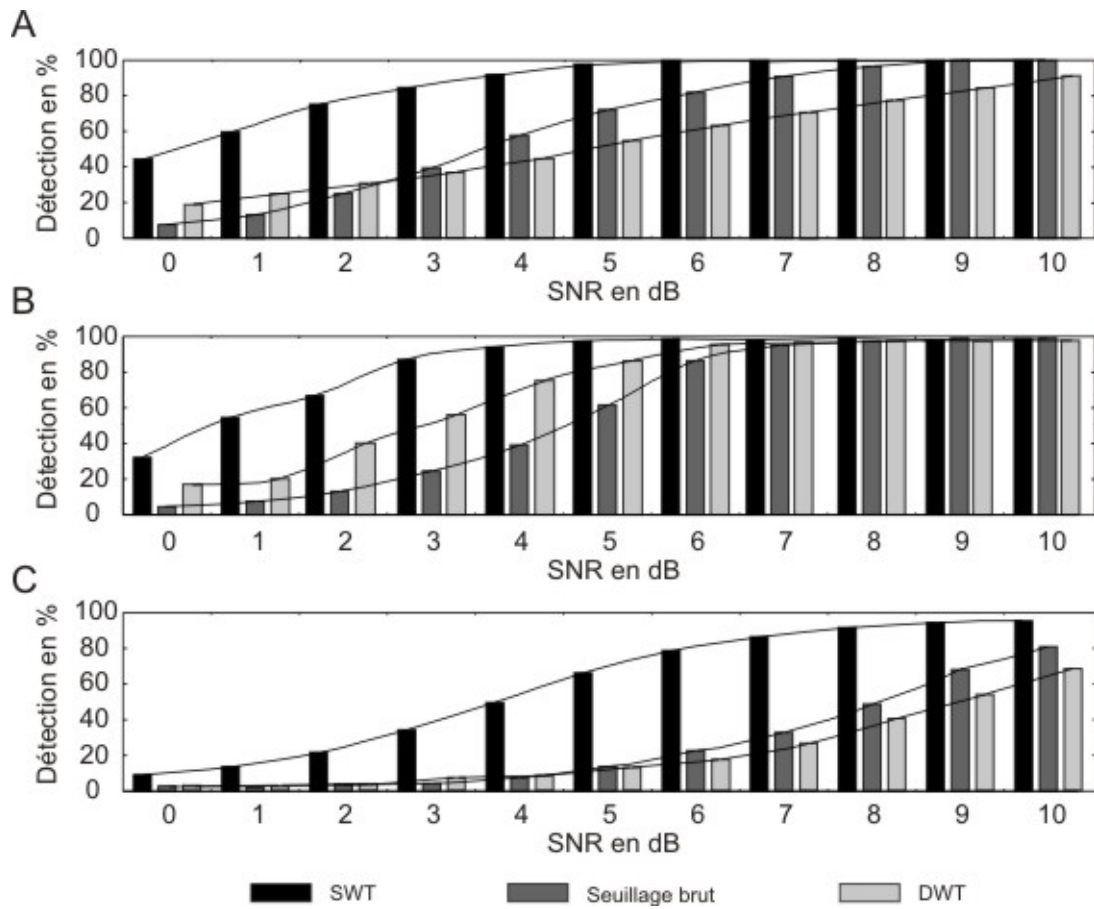


Figure II.13 – Taux de détection pour différentes méthodes. (A) PAs provenant de singe *in vivo*, (B) PAs provenant de Quiroga, (C) PAs provenant de Nenadic. La barre d'erreur maximale est de 0,86 % (non représentée); la valeur p et les faux positifs sont négligeables. ([Raoux et al., 2012])

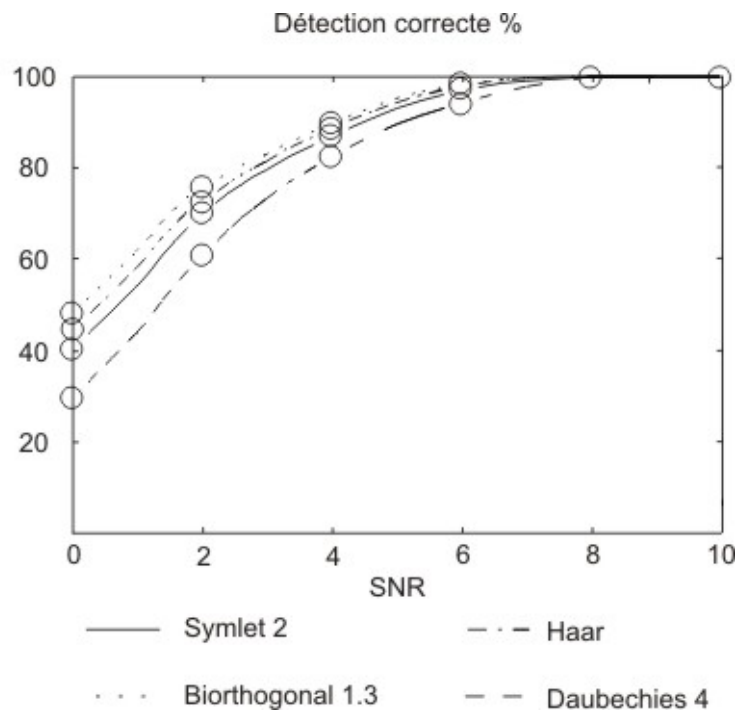


Figure II.14 – Taux de détection pour différentes ondelettes mères sur un signal provenant des PAs *in vivo* de singe. La barre d'erreur maximale est de 0,99 % (non représentée) ; la valeur p et les faux positifs sont négligeables.

0,5 pour le second et 0,25 pour le troisième) et la SWT coûte 3 ressources. Au final, la SWT utilise en théorie 58,3% plus de ressources que la DWT. Malgré cet inconvénient, la SWT apparaît tout de même comme le meilleur choix car son taux de détection est bien supérieur à celui de la DWT et du seuillage brut comparé au coût d'implémentation.

De plus, il faut noter que pour un SNR de 5 dB (figure II.9), l'extraction des PAs avec un simple seuillage brut n'est pas possible alors que la SWT propose d'excellents résultats. On obtient un très bon niveau de détection pour les signaux *in vivo* de singe et Nenadic mais aussi pour Quiroga où le taux de détection est supérieur à 60%. Cette comparaison montre la puissance de la transformée en ondelettes stationnaire pour extraire des PAs d'un signal extrêmement bruité, mais cela démontre aussi que sans ce genre de méthode, la détection dépend en grande partie du signal d'entrée.

- L'impact de l'ondelette mère : Cette étude est illustrée par la figure II.14 montrant le test effectué sur le signal neuronal créé à partir de PAs de singe. On note que l'utilisation de l'ondelette bior1.3 (Biorthogonale 1.3) donne les meilleurs résultats de détection. La

figure II.2, qui représente les ondelettes utilisées dans cette étude, montre qu'il y a une grande similitude de forme entre l'ondelette bior 1.3 et un PA. Ceci nous confirme que plus la forme de l'ondelette ressemble au PA, plus la détection est correcte.

- Le coût d'implémentation : nous préférons des coefficients d'ondelette avec le moins possible de digits ce qui aura une influence sur la précision numérique en nombre de bits (voir table 2). Pour une implémentation matérielle (sur circuit intégré), au vu des résultats de détection et du nombre de coefficients, l'ondelette Haar semble être en définitive le meilleur choix. Toujours dans cette optique de réduction des coûts d'implémentation, nous avons limité le nombre de digits et donc la place qu'occuperait les coefficients d'ondelette dans une RAM. La figure II.15 montre les résultats de l'utilisation d'une même ondelette mère à un niveau de précision élevé (10 digits) et à un niveau faible (2 digits) et son impact sur le taux de détection des PAs. Ils montrent qu'il n'y a que 1% de différence de détection entre les deux configurations (haute et faible précision). Bien sûr en utilisant 2 digits, on perd l'orthogonalité des ondelettes mais cela ne pose pas de problème, à partir du moment où la reconstruction du signal n'est pas envisagée. En termes d'occupation de RAM, un coefficient exprimé sur 2 digits ne requiert que 8 bits alors qu'un coefficient sur 10 digits requiert 34 bits. L'utilisation de 2 digits au lieu de 10 est une économie de place mémoire non négligeable en vue de l'implémentation multi-canaux.

Cette étude nous a permis de vérifier que nos choix de conceptions étaient justifiés en vue d'une implémentation matérielle du principe de détection de PAs par ondelette suivie d'un seuillage adaptatif. En prenant en compte plusieurs aspects de l'implémentation dont la méthode de détection, le niveau de détection sur lequel appliquer le seuil, la fréquence d'échantillonnage et le choix des ondelettes mères ainsi que le niveau de précision des filtres d'ondelette, nous en avons conclu que :

(a) En terme de détection de PAs, la SWT apparait comme étant la méthode la plus efficace malgré un coût de calcul élevé. (b) L'ondelette mère doit être choisie en fonction de la forme des PAs recherchés. (c) Une ondelette mère avec peu de coefficients (type Haar) propose un taux de détection égal à celui obtenu avec une ondelette plus fournie en nombre de coefficient (type bior1.3) et (d) les coefficients des filtres des ondelettes mères avec peu de précision permettent une détection du même niveau qu'avec une grande précision. Ce qui nous permet d'économiser une occupation RAM importante.

Notre stratégie de détection vient d'être dévoilée puis justifiée, maintenant notre objectif est de l'implémenter sur FPGA. Cette modélisation sur MATLAB nous a fourni une base solide afin de tester et de comparer nos principes d'implémentation.

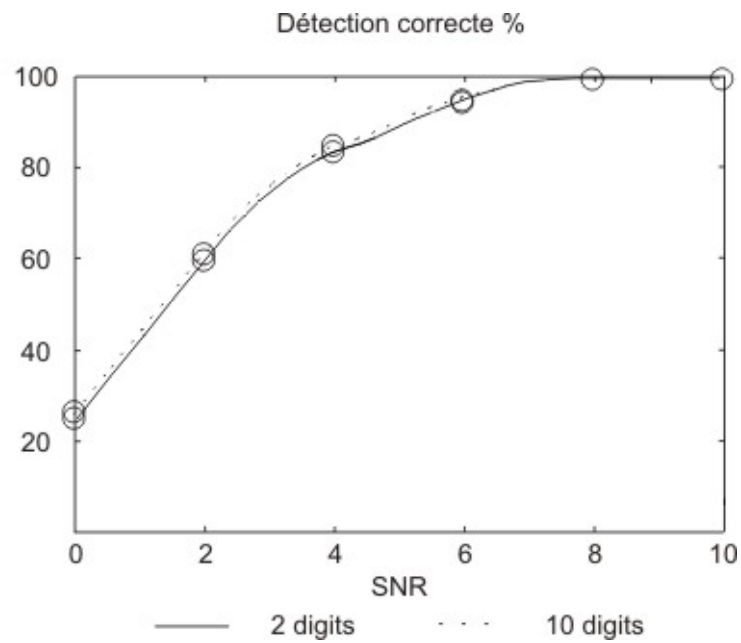


Figure II.15 – Taux de détection pour des coefficients d’ondelette utilisant 10 et 2 digits sur un signal provenant des PAs *in vivo* de singe. La barre d’erreur maximale est de 0,94 % (non représentée) ; la valeur p et les faux positifs sont négligeables.

Chapitre III

Au coeur de l'implémentation matérielle

La structure de détection ayant été simulée et testée sous MATLAB, il nous reste à la traduire en langage d'implémentation matérielle et à la synthétiser pour une utilisation sur FPGA (Field-Programmable Gate Array). Par conséquent, nous présenterons dans un premier temps le principe de fonctionnement d'un FPGA en insistant sur les outils dédiés à son implémentation, son comportement et sa structure dans le cadre de notre système de détection. Nous poursuivrons par une approche fonctionnelle et architecturale du système avec une description plus précise des principaux blocs appartenant au système de détection développé dans cette thèse.

1 Principes de fonctionnement d'un FPGA

Le composant de type FPGA est la structure matérielle sur laquelle notre système est basé. Cette partie sera entièrement dédiée à sa présentation et son rôle dans l'implémentation de l'architecture développée sous MATLAB dans le chapitre précédent.

1.1 Outils utilisés

Le FPGA (Field-Programmable Gate Array) ou réseau de portes programmables

Apparus au milieu des années 1980, les FPGAs sont des circuits composés de nombreuses cellules logiques élémentaires librement assemblables. Un bloc logique est de manière générale constitué d'une table de correspondance (LUT ou Look-Up-Table) et d'une bascule (Flip-Flop). La LUT sert à implémenter des équations logiques ayant généralement 4 à 6 entrées et une sortie. Elle peut toutefois être considérée comme une petite mémoire, un multiplexeur ou un registre à décalage. En plus de ces blocs logiques, un FPGA contient d'autres ressources précablées comme des mémoires RAMs, des générateurs d'horloge programmables, des entrées/sorties

programmables *etc.*. Plusieurs familles de FPGA existent ; la société Xilinx, un des principaux fabricants de FPGA, propose dans son nouveau catalogue les produits *Spartan-6*, *Artix-7*, *Kintex-7* et *Virtex-6*. En vue de fournir un environnement de travail plus complet les développeurs de FPGA proposent des kits de développement comprenant un FPGA comme pièce centrale, mais aussi d'autres composants pouvant être utilisés avec ce dernier (convertisseur analogique/numérique, convertisseur numérique analogique, écran LCD, port série *etc.*). Afin de pouvoir configurer un FPGA, il est nécessaire d'utiliser un langage de description matérielle ou un outil de saisie graphique. Après synthèse de cette description, on obtient un fichier de configuration pour le FPGA cible. Le langage choisi dans cette thèse est le VHDL.

Le VHDL (VHSIC hardware description language)

Le langage VHDL fait partie des standards IEEE (Institute of Electrical and Electronics Engineers) depuis 1987, il est largement répandu dans la réalisation de circuits numériques destinés à être implémentés sur FPGA. Le langage VHDL permet la description d'un système matériel, à savoir son comportement, sa structure et ses caractéristiques temporelles. A cela s'ajoute la possibilité, par le biais de ce langage, de non seulement simuler un système mais aussi de le synthétiser, la synthèse consiste à traduire par des logiciels adaptés (synthétiseurs) la description VHDL en une série de portes logiques prêtes à être gravées sur silicium. Par conséquent, en fonction de la capacité du FPGA hôte, il est possible de porter notre architecture et ainsi rendre nos travaux entièrement portables et reconfigurables. La suite logicielle utilisée pour la description et la synthèse est l'outil ISE, fourni par le fabricant Xilinx. Cette suite se compose d'outils pour la description soit par saisie en ligne soit, par saisie schématique, d'outils pour la simulation (Modelsim, Xilinx ISE Simulator *etc.*), pour la synthèse et l'implémentation vers le composant cible Xilinx.

1.2 Contexte de l'implémentation du système sur FPGA

Rôle du FPGA

Dans un premier temps, le FPGA doit réceptionner, formater et échantillonner les données provenant du milieu extérieur. On qualifiera cette action d'étape d'acquisition. Il doit, dans un second temps, envoyer les données formatées vers les blocs de calcul de la SWT et du seuil. Enfin, le FPGA devra mettre en forme tous les paramètres de la détection et permettre à l'utilisateur de les reconfigurer si nécessaire. Les contraintes liées au système sont d'une part, le temps réel :

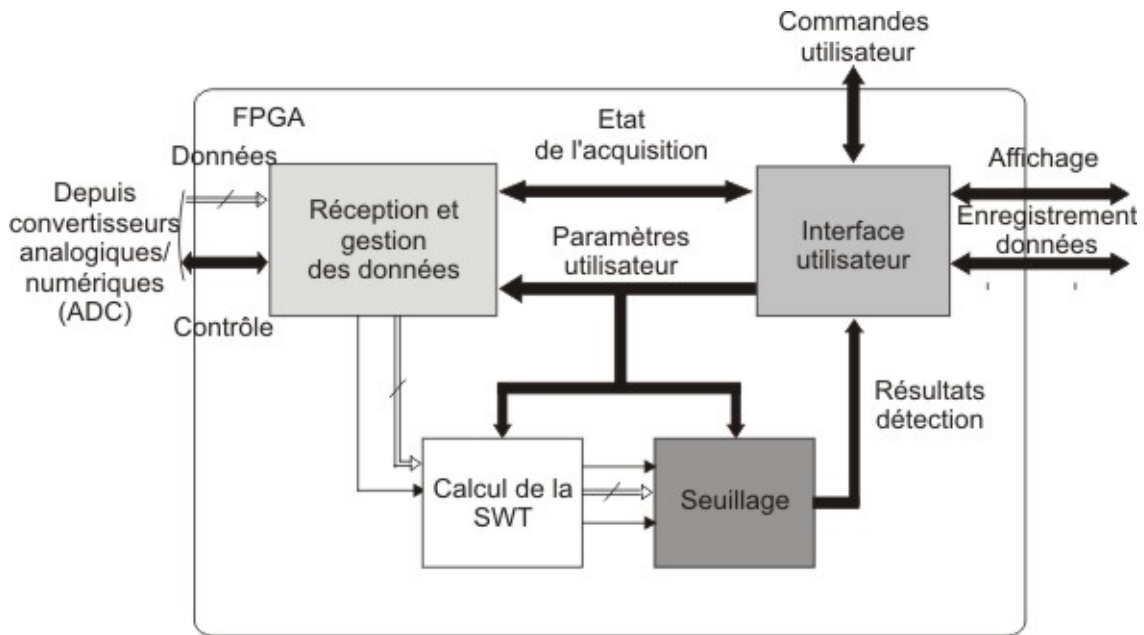


Figure III.1 – Architecture du système sur FPGA

le temps de calcul de la SWT et du seuil doit être inférieur à la période d'échantillonnage. D'autre part la consommation en cellules logiques et en mémoire doit être minimisée afin de rendre notre système intégrable sur une petite surface compatible à l'intégration d'implants biomédicaux.

Structure du système sur FPGA

La structure du système sur FPGA découle directement du comportement qui vient d'être énoncé et est présentée dans la figure III.1.

Sur ce schéma on remarque quatre blocs principaux : Le bloc *réception et gestion des données biologiques*, le bloc de *calcul de la SWT*, le bloc *seuillage* et le bloc *interface utilisateur*.

- Le bloc *réception et gestion des données* a pour rôle d'orchestrer l'acquisition du signal biologique par le biais de sa liaison avec les convertisseurs analogiques/numériques (ADC). Ainsi les données biologiques sont codées numériquement et subissent un premier formatage (diminution ou augmentation du facteur d'amplification) afin d'être transmises au module de détection. On peut noter que l'utilisateur peut accéder à l'état de l'acquisition car le bloc de réception transmet en temps réel l'état d'avancement de l'acquisition mais aussi le dépassement ou non de capacité des différentes données biologiques formatées.
- Le bloc *interface utilisateur* a une double fonction. Il transmet, d'une part, les commandes

de l'utilisateur vers les trois autres modules contribuant ainsi à la reconfigurabilité à la volée du système. Et d'autre part, il transmet toutes les informations utiles provenant des autres modules à l'utilisateur par le biais d'un écran ou d'un terminal. Il faut bien faire la différence entre reconfigurabilité à la volée et configuration du FPGA. La configuration consiste à synthétiser le code VHDL sur le FPGA afin d'implémenter un design de portes logiques fixe. Ce processus peut prendre une dizaine de minutes alors que la reconfigurabilité à la volée permet au FPGA de modifier rapidement les paramètres de la détection sans avoir à configurer un nouveau design sur le FPGA.

- Le bloc *calcul de la SWT* consiste à calculer les différents coefficients de détails (d^j) et d'approximations (a^j) vus dans le chapitre II. Il reçoit les données biologiques du bloc d'acquisition afin de procéder au calcul de la SWT. Les paramètres du calcul sont fournis par le bloc utilisateur.
- Le bloc *Seuillage* effectue le calcul de l'écart type afin d'évaluer un seuil pour ensuite le comparer avec la sortie de la SWT. Par conséquent la structure de seuillage est connectée à la structure de calcul de SWT par trois liens : un lien principal transportant les données de sortie du module de calcul de la SWT (niveau de détail 1 et niveau de détail voulu par l'utilisateur) et deux liens indiquant quel type de donnée transite sur le lien principal. Il reçoit aussi les signaux commandant le seuillage de l'interface utilisateur et renvoie les sorties de la détection.

Evolution de l'architecture du système sur FPGA

Ces quatre blocs sont communs à toutes les versions du système de détection. Mais au fur et à mesure de notre avancée dans la thèse, nous les avons modifiés de façon à ce qu'ils répondent aux différents besoins qui nous sont apparus. Par conséquent, de par l'utilisation de la transformée en ondelettes, évoquant pour nous la mer Méditerranée (Med) et de la multitude de versions ayant été développé (Multi), nous avons appelé notre projet : "MultiMed" dont "NeuroBetaMed_Matlab" est la version logicielle dédiés au développement théorique de notre système et "NeuroBetaMed_Rs232", "NeuroBetaMed" et "NeuroBetaMed XL" sont les versions matérielles développées. La figure III.2 présente l'historique d'apparition des différentes versions.

- NeuroBetaMed_Rs232 est la première version matérielle implémentée. Son principal objectif était le développement du module de détection des PAs. L'interface utilisateur ainsi que l'interface de réception et gestion des données étaient réduits au maximum.
- NeuroBetaMed puis NeuroBetaMed XL sont plutôt tournés vers le développement du

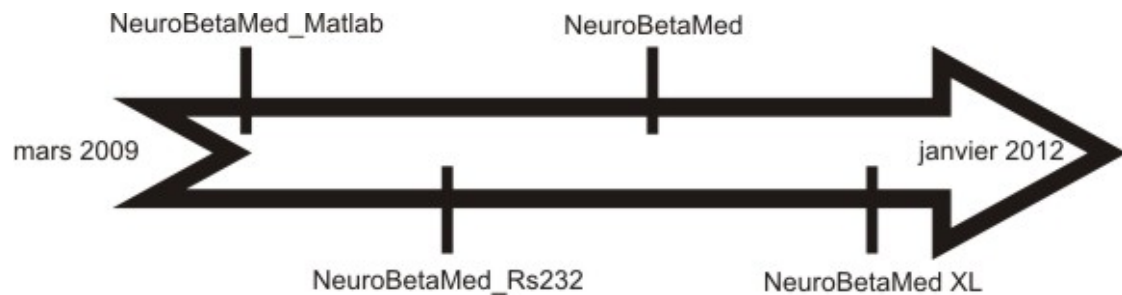


Figure III.2 – Projet MultiMed : évolution de l’architecture du système sur FPGA

bloc d’acquisition et du bloc d’interface utilisateur.

Nous verrons plus en détails ces versions dans le dernier chapitre de cette thèse. Maintenant que le principe de fonctionnement du FPGA vient d’être présenté, nous allons pouvoir nous atteler à la description de l’architecture des différents modules énoncés dans la figure III.1.

2 Module de calcul de la SWT

Historiquement le premier module développé durant cette thèse a été le module de calcul de la SWT. Nous allons donc le présenter en premier en commençant par le cahier des charges défini avec nos collaborateurs.

2.1 Cahier des charges

L’implémentation étant numérique, le premier aspect de ce cahier des charges pointe le codage binaire des valeurs numériques. En effet, cet aspect conditionne beaucoup de paramètres comme la taille des ADCs, la taille des RAMs, le temps de calcul *etc.*. Par conséquent, le choix doit être fait avec beaucoup de précautions. Nous avons établi (chapitre II.1.3) que pour la plupart des ondelettes mères, la SWT consistait au maximum en 7 additions et 8 multiplications avec des coefficients d’ondelette mère strictement inférieurs à 1. La principale difficulté consiste à ne pas observer de dépassement de capacité lors du calcul de la SWT. Afin de limiter ce problème, après étude logicielle (chapitre II.3), nous avons introduit une étape de normalisation des données biologiques en entrée afin de réduire la probabilité d’observer un dépassement. Nous optons donc pour un codage binaire à complément à deux sur 16 bits avec une virgule fixe située entre les bits 15 et 14, limitant donc les sorties du calcul en SWT entre -2 et +2. Une autre solution, en complément de la normalisation, est de diminuer le gain d’amplification du signal biologique afin de réduire la dynamique d’entrée. Enfin une solution radicale, plus complexe et

Tableau III.1 – Codage binaire des valeurs décimales

	Valeur décimale	Valeur binaire
Plage de fonctionnement	1,999938964843750	01.11111111111111
	-1,999938964843750	10.00000000000001
Valeur du LSB	0,000061035156250	00.00000000000001

gourmande en circuit logique, est prévue dans la version finale du système afin de stopper le calcul lors de l'apparition d'un dépassement de capacité. Le tableau III.1 représente le codage binaire choisi.

Le deuxième paramètre à prendre en compte après le codage binaire est la fréquence d'échantillonnage. En effet, c'est elle qui fixe le temps d'apparition d'un nouvel échantillon. Avec le système d'acquisition provenant de l'entreprise MCS (Multi Channel System) que nous avons utilisé, cette fréquence est fixée à 10 kHz, c'est-à-dire que nous avons 100 μ s entre chaque échantillon pour effectuer toutes nos opérations. Cette fréquence d'utilisation est imposée par les filtres présents le long de la chaîne d'acquisition et ne peut être modifiée sans bruyier le signal d'entrée.

Enfin le dernier point du cahier des charges se concentre sur l'utilisation mémoire. Comme nous l'avons montré, il faut mémoriser les niveaux d'approximations intermédiaires ($a^{j-1}, a^{j-2} \dots$) ainsi que les 8 coefficients des filtres des ondelettes mères afin de calculer le niveau j . Ainsi pour le premier niveau, il faut enregistrer les 8 derniers échantillons du signal biologique, pour le deuxième niveau, il faut enregistrer les 16 derniers coefficients d'approximations obtenus du niveau 1, *etc.* Par conséquent plus on va dans les niveaux élevés plus l'occupation mémoire augmente : elle est multipliée par deux à chaque niveau de décomposition et est proportionnelle au nombre de canaux. Par conséquent, une gestion de la RAM devra être effectuée de façon très prudente afin de ne pas dépasser les capacités du FPGA.

Le cahier des charges pour l'implémentation matérielle de la SWT vient d'être présenté avec comme point crucial l'occupation mémoire, voyons maintenant la structure de la SWT.

2.2 Structure du calcul de la transformée en ondelettes stationnaire (SWT)

Après étude du cahier des charges, la structure fonctionnelle de calcul de la SWT en temps réel associée à une RAM se présente comme une structure permettant de faire 7 additions et 8

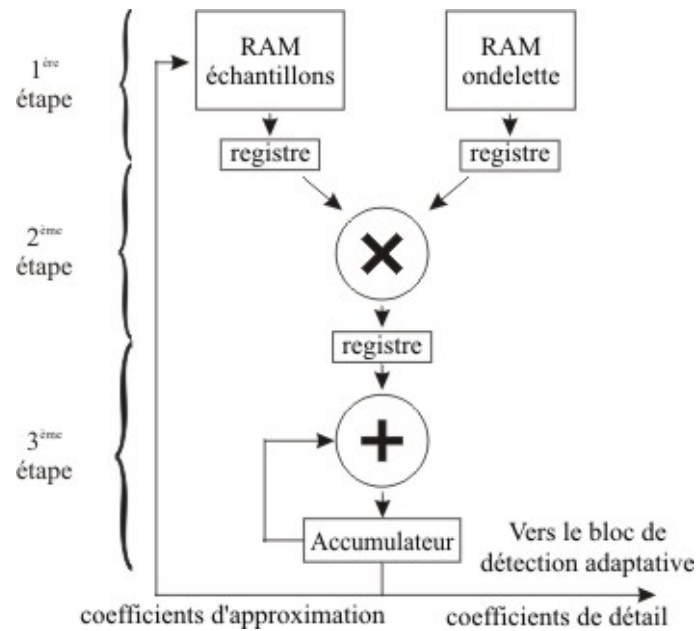


Figure III.3 – Structure pipeline du calcul de la SWT

multiplications. Le résultat de ce calcul est soit enregistré par la RAM, soit envoyé aux autres blocs du système de détection. En vue d'implémenter cette fonction, nous sommes confrontés au double problème temps/ressources ; le calcul de la SWT peut être effectué avec une architecture parallèle où les calculs sont effectués très rapidement en consommant beaucoup de ressources (8 multiplieurs et 7 additonneurs). Ou il peut se réaliser en utilisant plus de temps, en utilisant une architecture séquentielle, par un pipeline consommant 1 multiplieur et 1 additonneur. Dans notre application, de par la fréquence d'échantillonnage assez faible, notre contrainte en temps n'est pas un obstacle majeur. Au contraire de la contrainte en ressource où, dans un FPGA, les multiplieurs sont une denrée assez limitée. Par conséquent l'architecture séquentielle sera préférée dans notre cas à l'architecture parallèle

Architecture fonctionnelle et coût matériel

Suite aux réflexions ci-dessus, nous avons choisi une structure pipelinée sur 3 étages (figure III.3). La structure en pipeline répartit le calcul en ondelette sur un seul additonneur et multiplieur en effectuant un multiplexage temporel.

- Le 1^{er} étage de calcul consiste à lire les deux RAMs afin de présenter au multiplieur les bonnes données. Nous utilisons une RAM de taille $8 \times 16b$ qui contient les 8 coefficients des filtres définissant l'ondelette mère. Contrairement à cette mémoire qui est fonction-

Chapitre III. Au coeur de l'implémentation matérielle

nellement comparable à une ROM (même si on se garde le droit de modifier ses valeurs), la deuxième RAM doit mémoriser les échantillons du signal biologique ainsi que les coefficients d'approximation des niveaux de décomposition inférieurs à chaque nouveau calcul ou échantillon.

- La seconde étape est de faire la multiplication pour ensuite faire dans une troisième étape une addition qui va être envoyée à l'accumulateur. Au bout de la 8^{ème} donnée, le calcul est prêt.

Un exemple de l'évolution du remplissage de la mémoire *RAM échantillons* en fonction de l'arrivée d'un échantillon $x[n]$ est présentée en figure III.4 pour un seuillage sur le niveau 3 de décomposition. $x[n]$ correspond au signal d'entrée pour l'échantillon n et a^i identifie le coefficient d'approximation au niveau i . On remarque que pour effectuer un calcul jusqu'au niveau 3, il faut une RAM de taille $56 \times 16b$. Or une RAM de cette taille est automatiquement étendue par le FPGA en une RAM de taille de $64 \times 16b$ pour plus de commodité au niveau de l'adressage des données. Par conséquent, on aura une taille de RAM pour un niveau 4 : $128 \times 16b$, pour un niveau 5 : $256 \times 16b$ et pour un niveau 6 : $512 \times 16b$ etc.. Si on veut étendre ce système à n canaux d'acquisition, il faut multiplier par n chaque taille présentée précédemment.

Le coût matériel majeur du calcul de la SWT sur n canaux d'acquisition au niveau de seuil i ($i \geq 2$) se résume par l'utilisation de :

- deux RAMs de taille fixe : $8 \times 16b$
- une RAM de taille variable : $n \times 8 \times 2^i \times 16b$
- un multiplieur

Architecture temporelle

En ce qui concerne le temps de calcul de la SWT, la figure III.5 présente un aperçu de l'évolution temporelle du calcul.

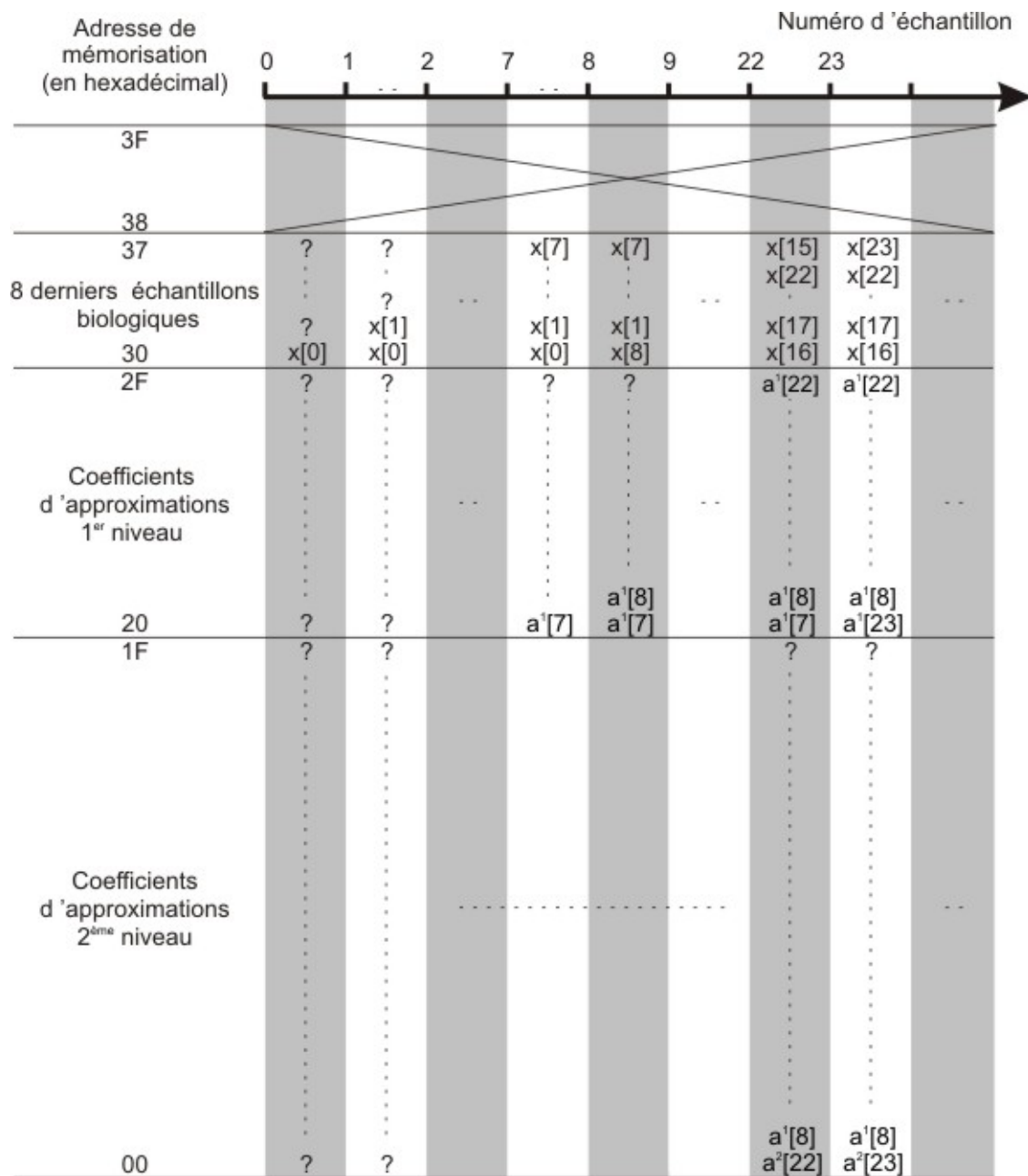


Figure III.4 – Evolution du remplissage de la mémoire RAM échantillons en fonction de l'arrivée d'un échantillon $x[n]$. La zone barrée (haut) correspond à la zone mémoire non utilisée. les ? représentent des espaces mémoires non encore affectés.

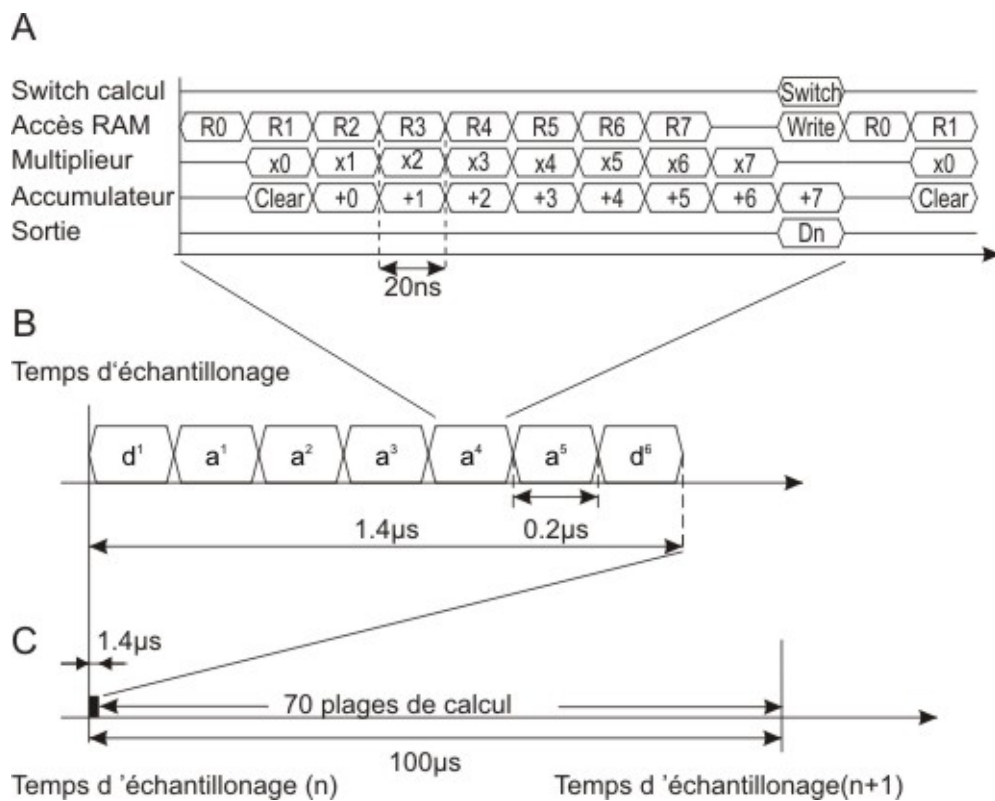


Figure III.5 – Timing du calcul de la transformée en ondelette stationnaire (SWT). A) Timing pour le calcul d'un niveau d'approximation, B) Timing pour le calcul du niveau 6 de détail, C) Timing restant sur une période d'échantillonnage.

Nous remarquons que notre structure en pipeline effectue 8 additions, et non pas 7 comme énoncé dans la théorie. Ceci est fait dans un souci de symétrie temporelle par rapport aux 8 multiplications. De plus, un état de *clear*, non pénalisant en terme de temps de calcul, a été mis en place au niveau de l'addition afin de la décaler par rapport à la multiplication. Ainsi, nous assurons le fait que la multiplication se déroule en premier par rapport à l'addition. La figure III.5.A montre que la séquence d'opération pour le calcul d'un coefficient d'approximation ou de détail (a^j ou d^j) est d'une durée de 10 cycles soit 20 ns si l'on considère une fréquence de fonctionnement du FPGA de 50 MHz (cette fréquence dépend du FPGA choisi). Cinq unités fonctionnelles sont impliquées dans le calcul : *Switch calcul* (Nouveau calcul), l'*accès RAM*, l'*accumulation*, le *multiplieur* et la *sortie*. La figure III.5.B montre que la durée des calculs menant au calcul du sixième niveau de détail est de 1,4 μ s. Enfin puisque les expériences sont menées avec une fréquence d'échantillonnage de 10 kHz sur le signal biologique, nous pouvons reproduire 70 fois ce calcul sur une période d'échantillonnage (figure III.5.C). Ainsi on peut en conclure qu'il est tout a fait envisageable de conserver cette structure de calcul

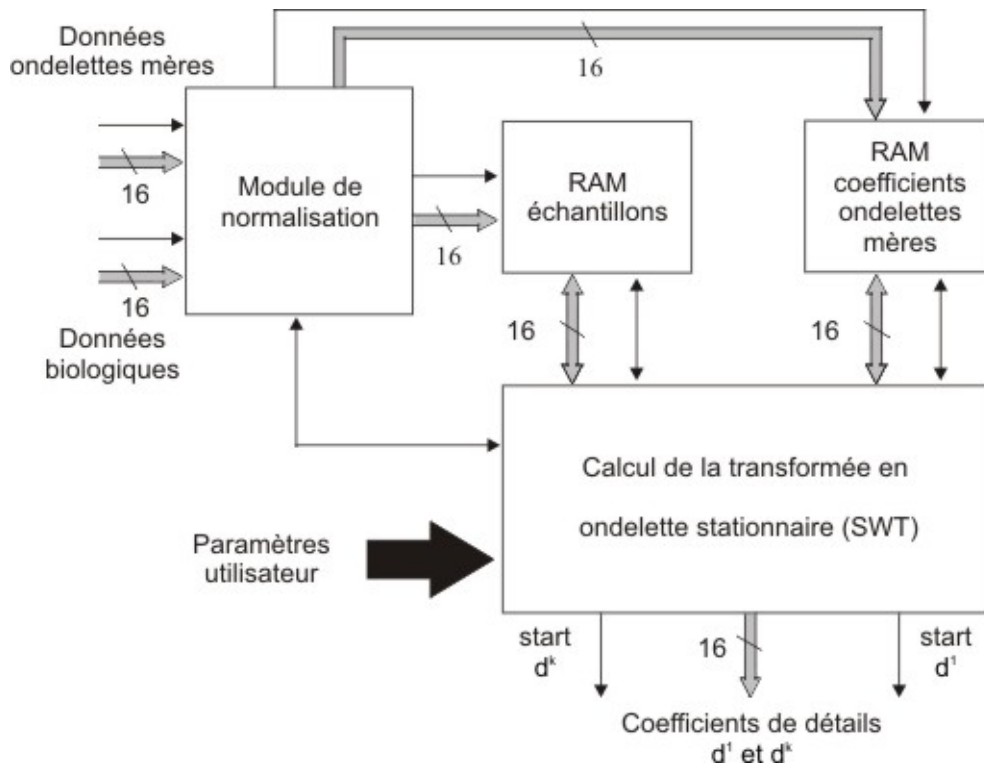


Figure III.6 – Structure VHDL du calcul de la transformée en ondelette stationnaire (SWT)

pour le traitement des 64 canaux extrait d'un MEA, avec une consommation mémoire totale de $64 \times 512 \times 16b$ pour obtenir un niveau de décomposition maximal de 6.

En ce qui concerne les entrées/sorties, elles sont gérées par le bloc d'acquisition. Ainsi le calcul de la SWT n'a besoin que de la donnée biologique codée sur 16 bits et d'un signal d'ordre de transfert. Ensuite la structure de calcul de la SWT lance le calcul des coefficients d'approximation et propose au module de seuillage le premier niveau de détail pour calculer l'écart type ainsi que le niveau de détail souhaité où effectuer le seuillage. L'utilisateur peut interagir en permanence sur le choix de l'ondelette mère et le niveau de détail désiré pour le seuillage. Au final la structure de calcul de la SWT est considérée comme configurable à la volée et temps réel.

Structure VHDL

De ces deux architectures, on peut en déduire une structure VHDL finale du module de calcul de la SWT (figure III.6).

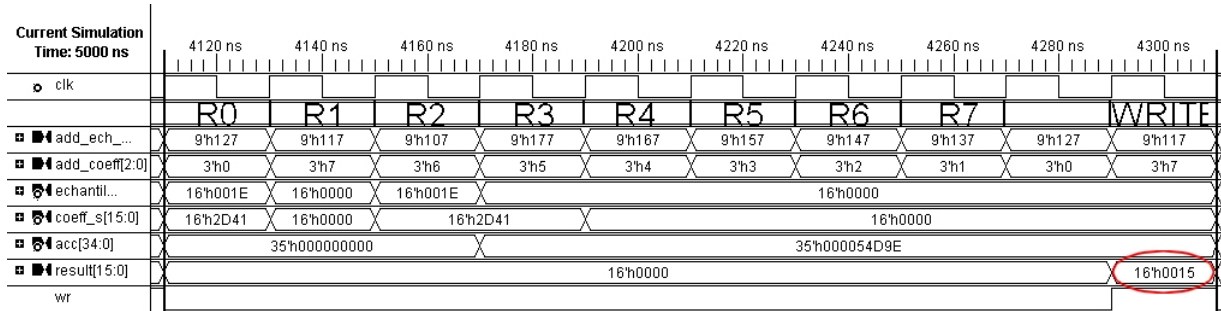


Figure III.7 – Chronogramme de test du calcul de la SWT : Ri correspond aux accès RAM de la figure III.5, *add_ech_* et *add_coeff[2 :0]* : adresses de lecture de la RAM échantillon et de la RAM ondelette mères, *echantil* et *coeff_s[15 :0]* : valeurs hexadécimales des RAMs, *acc[34 :0]* : valeur de l'accumulateur, *result[15 :0]* : résultat du calcul, *wr* : ordre d'écriture

Une première étape de normalisation est effectuée afin de répondre au premier point du cahier des charges (chapitre II.2.1). Ensuite on repère un étage de mémorisation représenté par les deux RAMs reliées par une liaison bidirectionnelle au bloc de calcul de la SWT afin de fournir à ce dernier les données nécessaires au calcul. Enfin les données correspondantes au coefficient de détail de niveau 1 et de niveau k (niveau voulu par l'utilisateur) ainsi que les deux signaux de contrôle ($start_d^1$ et $start_d^k$) sont envoyés au bloc de seuillage. La reconfigurabilité du système est représentée par l'axe de paramètres utilisateur.

2.3 Procédures et résultats de vérification fonctionnelle

La première procédure pour la vérification des résultats est de faire une simulation en utilisant un testbench sous le logiciel ISE de Xilinx. Nous avons donc écrit une routine sous MATLAB afin de construire notre fichier testbench dont le but est de simuler l'arrivée de plusieurs échantillons correspondant au signal biologique sur notre circuit. Ainsi nous pouvons par la suite vérifier chaque étape de calcul.

La figure III.7 représente les 10 étapes de calcul menant au calcul d'un coefficient d'approximation au niveau 5. La RAM échantillons est initialisée à la valeur 0.

On simule le calcul d'un coefficient d'approximation au niveau 4 avec une ondelette de haar (2 coefficients).

- 1^{ère} étape : Envoi des adresses de lecture pour les deux RAMs (R0)
- 2^{ème} étape : Arrivée des premières données (R1). Décrémentement des adresses de lecture
- 3^{ème} étape : Première addition puis accumulation qui est dans cet exemple nulle (*acc[34 :0]*).

Notez que l'accumulation est codée sur 35 bits. Cela est tout a fait normal car puisque nous faisons une multiplication de deux nombres de 16 bits, nous préférons garder un maximum de précision. On observe encore une arrivée des données et une décrémentation des adresses de lecture (R3)

On continue de même jusqu'à la 8^{ème} étape.

- 8^{ème} étape : Envoie des dernières adresses (R7)
- 9^{ème} étape : Arrivée des dernières données et calcul
- 10^{ème} étape : On extrait les bits significatifs de l'accumulation correspondant au résultat du calcul (WRITE)

Ainsi les étapes de calculs sont respectées et l'enchaînement des actions est bien synchronisé comme le prévoyait la figure III.5.A. Par conséquent, d'un point de vue fonctionnel, le calcul de la SWT est correct.

Maintenant que nous avons vérifié le déroulement des séquences de calcul, vérifions le calcul en lui même : l'échantillon provenant du coefficient d'approximation 3 est \$001E = 0,001831054 et le coefficient du filtre d'ondelette Haar pour calculer un niveau d'approximation est égal à \$2D41 = 0,7071067812.

La séquence que nous voulons calculer est donc la suivante :

$$\begin{aligned}
 a^4[0] &= a^3[-7] \times h0 + a^3[0] \times h7 + a^3[-1] \times h6 + a^3[-2] \times h5 \\
 &\quad + a^3[-3] \times h4 + a^3[-4] \times h3 + a^3[-5] \times h2 + a^3[-6] \times h1 \\
 \Leftrightarrow a^4[0] &= 0 \times 0 + 0,001831054 \times 0,7071067812 + 0,7071067812 \times 0 + \\
 &\quad + 0 \times 0 + 0 \times 0 + 0 \times 0 + 0 \times 0 + 0 \times 0 \\
 \Leftrightarrow a^4[0] &= a^4[0] = 0,00129690836577553848 = \$0015 \tag{III.a}
 \end{aligned}$$

Où h_i ($i \geq 8$) correspond aux 8 coefficients du filtre de l'ondelette mère et a^j aux coefficients d'approximations au niveau j .

Or le résultat que l'on trouve avec la simulation est identique à celui trouvé précédemment. Nous avons bien sûr continué l'expertise sur plusieurs échantillons et plusieurs types d'ondelettes et les résultats correspondent. La simulation sur n canaux a été aussi effectuée et nous avons pu mesurer l'efficacité du multiplexage des différents canaux ainsi que la gestion de la RAM échantillons étendue. Le temps de calcul pour les 64 canaux est conforme aux prévisions

théoriques.

Par conséquent on peut en conclure que le calcul de la SWT est correct en simulation. La prochaine étape est donc de le tester en situation réelle, nous verrons cela dans le prochain chapitre avec la description des différentes versions de MultiMed.

3 Module de seuillage

La structure de seuillage est destinée à effectuer le calcul de l'écart type afin d'évaluer un seuil pour ensuite le comparer avec le niveau de détail de la SWT adéquate. Par conséquent la structure de seuillage est connectée à la structure de calcul de SWT par 3 liens : un lien principal transportant les données de sortie de la SWT (niveau de détail 1 et niveau de détail voulu par l'utilisateur) et deux liens indiquant quel type de donnée transite sur le lien principal (figure III.1).

3.1 Cahier des charges

En ce qui concerne le codage des nombres binaires ainsi que de la fréquence d'échantillonnage, le cahier des charges pour la structure de détection est la même que celle du calcul de la SWT. Afin d'évaluer les contraintes au niveau matériel, rappelons la structure théorique du modèle de seuillage dans la figure III.8 (chapitre II.2).

Les principaux éléments matériels devant être utilisés sont des filtres passe-bas, des comparateurs, des amplificateurs, des multiplieurs et des modules de calcul de valeur absolue. En effet, en vue de la simplification des calculs, nous avons préféré n'utiliser que la valeur absolue des coefficients de détails. Cette économie nous permet d'éviter la gestion du seuillage négatif, rendant la structure beaucoup plus simple.

En ce qui concerne les filtres passe-bas, leur fonction est, comme nous l'avons vue (chapitre II.2), de calculer une valeur moyenne. Pour cela, nous en avons extrait différents paramètres comme la fréquence de coupure et le type de filtre nous permettant d'évaluer la fonction de transfert (II.j) vu dans le chapitre II. D'un point de vue temporel, ces filtres sont des filtres IIR (Infinite Impulse Response) ayant pour définition l'équation III.b.

$$y[n] = K \times x[n] + K \times x[n-1] + a_1 \times y[n-1] \quad (\text{III.b})$$

Avec n le numéro d'échantillon, K et $a_1 = -w_p$ coefficients du filtre IIR (table A1.2 située en annexe 1), y la sortie du filtre et x l'échantillon d'entrée.

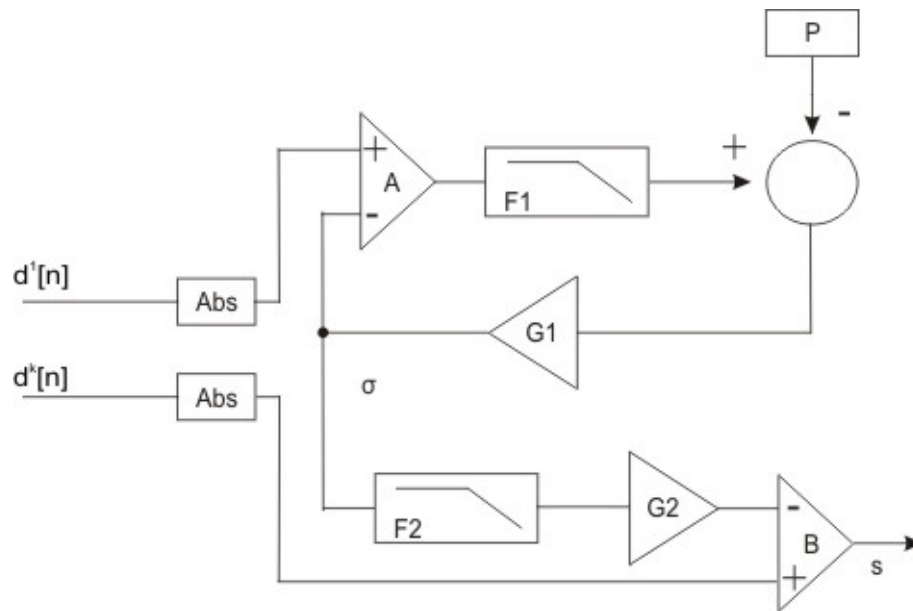


Figure III.8 – Modèle du seuillage adaptatif en temps réel (chapitre II.2)

La contrainte la plus importante sera la contrainte temporelle. En effet après l'arrivée d'un échantillon correspondant au niveau de détail 1 (servant au calcul de l'écart type), le temps minimum avant le calcul du prochain niveau de détail (d^2) est de 420 ns. Par conséquent le calcul du seuil devra se faire dans ce temps imparti (figure III.10).

3.2 Structure du module de seuillage

Architecture fonctionnelle et coût matériel

Après lecture du cahier des charges plusieurs fonctions nous sont apparues. Le calcul de la valeur absolue consiste en un calcul de l'inverse d'un complément à deux si la donnée en entrée (coefficient de détail) est négative. Par conséquent ce calcul contient une soustraction par 1 suivi d'un inverseur. La soustraction par la référence ainsi que le gain de deux sont effectués dans le même cycle d'horloge. En termes d'utilisation matérielle, la soustraction consomme un soustracteur et le gain (G1) de deux a été effectué grâce à un décalage d'un bit vers la gauche. Si le résultat de cette soustraction est négatif alors le résultat final envoyé au gain G1 est égal à zéro. Le gain G2 est quant à lui effectué par un multiplieur car nous voulons pouvoir modifier finement sa valeur. A et B sont des comparateurs nécessitant un cycle d'horloge.

La partie la plus délicate dans cette structure de détection est la réalisation des filtres F1 et F2. Etant identiques (chapitre II.2), nous avons décidé de n'utiliser qu'un seul bloc de calcul

(*passé_bas*) effectuant l'équation III.b pour modéliser les filtres. Une structure pipelinée sur cinq étages a été utilisée afin de réduire au maximum le nombre de multiplieur et d'additionneur (figure III.9).

- La première étape consiste à lire la valeur des RAMs ainsi que de la donnée en entrée
- Ensuite, une machine d'état par le biais de deux multiplexeurs choisit d'une part la donnée échantillon ($x[n]$, $x[n-1]$ ou $y[n-1]$) et d'autre part le coefficient du filtre (K ou a^1).
- La troisième étape consiste à effectuer la multiplication et la dernière étape effectue l'accumulation. Au bout de la troisième accumulation le calcul est terminé et la donnée est envoyée en sortie du filtre.

D'un point de vue matériel, le bloc filtre possède 2 RAMs (une contenant les données $x[n-1]$, une contenant les données $y[n-1]$) nécessaires au stockage des 64 canaux, un jeu de registres et de multiplexeurs, un multiplieur, un additionneur et un accumulateur. En fonction du nombre de canaux (n_canal) sur lesquels le seuil est calculé, la taille des RAMs varie et est de l'ordre de $2 \times n_canal \times 16b$ (le nombre 2 permet de différencier la RAM destinée au filtre 1 et celle du filtre 2). L'utilisation d'un multiplieur pour implémenter ce filtre passe-bas d'ordre 1 peut sembler exagérée, un simple décalage de bit aurait pu suffire. Nous avons testé cette possibilité mais les résultats des multiplications implémentées par un décalage de bit n'étaient pas assez précis pour nos applications. Nous avons donc opté pour l'utilisation d'un multiplieur pour l'implémentation de notre filtre.

Le coût matériel du seuillage se résume donc :

- deux RAMs de tailles variables en fonction du nombre de canaux n : $n \times 16b$
- deux multiplieurs

Architecture temporelle

La figure III.10 représente les contraintes temporelles liées à l'utilisation des différents blocs. Le calcul du seuil est lancé suite à l'arrivée du niveau de détail 1 sur le bloc de seuillage grâce au signal $start_d^1$. Le seuillage est quant à lui effectué lorsque le niveau de détail que l'utilisateur a choisi est calculé. Le signal $start_d^1$ indique le début du seuillage.

D'un point de vue temporel, il faut attendre 320 ns (à une fréquence de fonctionnement de 50 MHz soit 16 cycles d'horloge pour que le seuil soit calculé (III.10). Ainsi nous entrons dans les conditions temporelles fixées par le cahier des charges qui était de faire le calcul du seuil en moins de 420 ns.

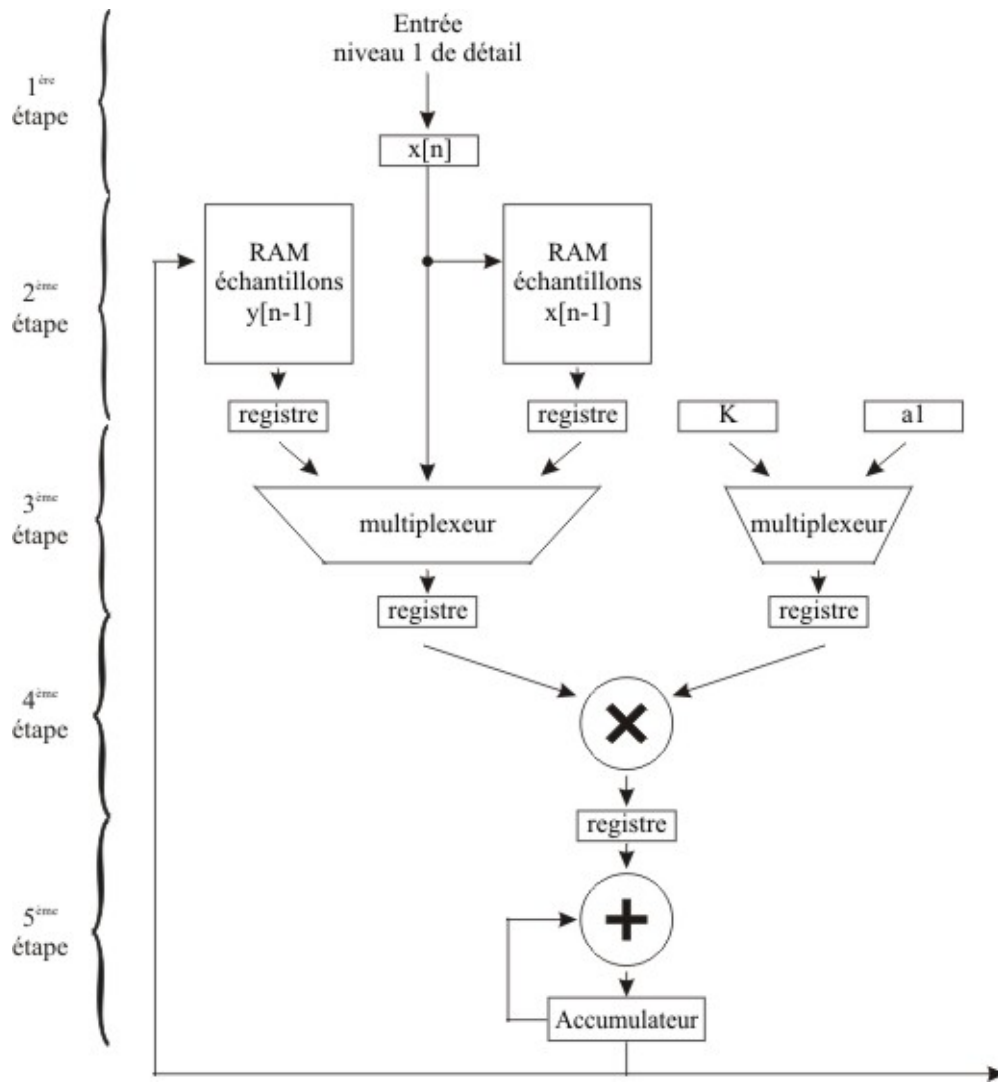


Figure III.9 – Structure pipeline des filtres F1 et F2

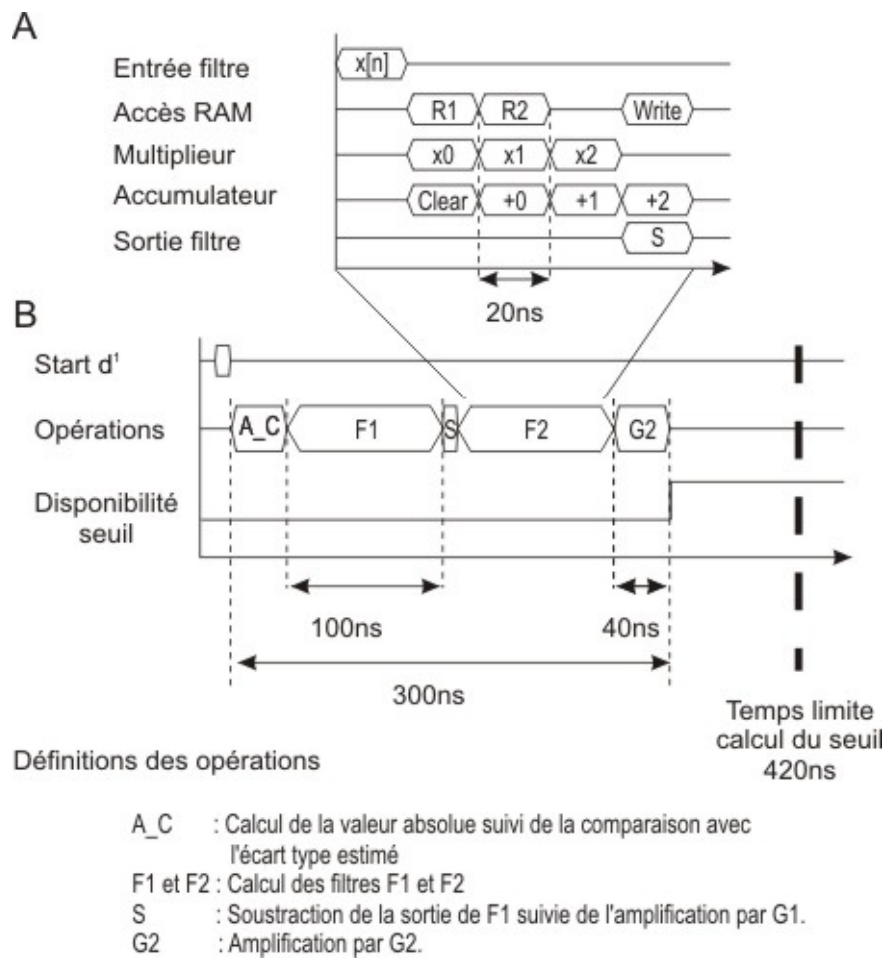


Figure III.10 – Chronogramme de test du calcul des filtres F1 et F2. A) Timing pour le calcul d'un filtre, B) Timing pour le calcul des deux filtres.

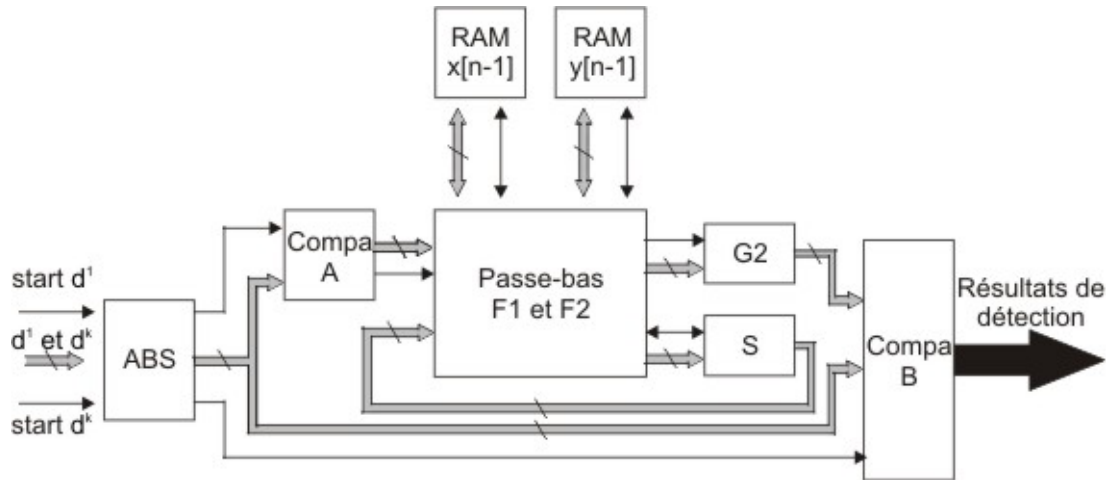


Figure III.11 – Structure système finale du module de seuillage ; ABS : Calcul de la valeur absolue, Compa A et B : Comparateurs, G2 : Amplification par un gain G2 fixé par l'utilisateur ; S : Soustraction suivie d'une amplification par le gain G1.

Structure finale du système

De ces deux architectures, on déduit une structure finale du système du module de seuillage (figure III.11).

Les sorties de détection se composent de plusieurs signaux :

- La détection en elle même qui se caractérise par un signal codé sur 64 bits, correspondant aux 64 canaux d'acquisition
- Le seuil calculé (codé sur 16 bits)
- Les données du coefficient de détail choisi par l'utilisateur sur lequel on calcule le seuil

Pour plus de clarté, les paramètres de contrôle utilisateur ont été volontairement non représentés. Maintenant que la structure finale du module de calcul du seuil est réalisée, voyons son fonctionnement en simulation.

3.3 Procédures et résultats de vérification fonctionnelle

Les procédures de vérification sont les mêmes que pour le calcul de la SWT.

Dans un premier temps nous avons vérifié le bon fonctionnement du bloc *Passe-bas F1 et F2*. Le but est de comparer le déroulement des séquences de calcul de la figure III.10A et celui la figure III.12 obtenu après simulation sous Xilinx.

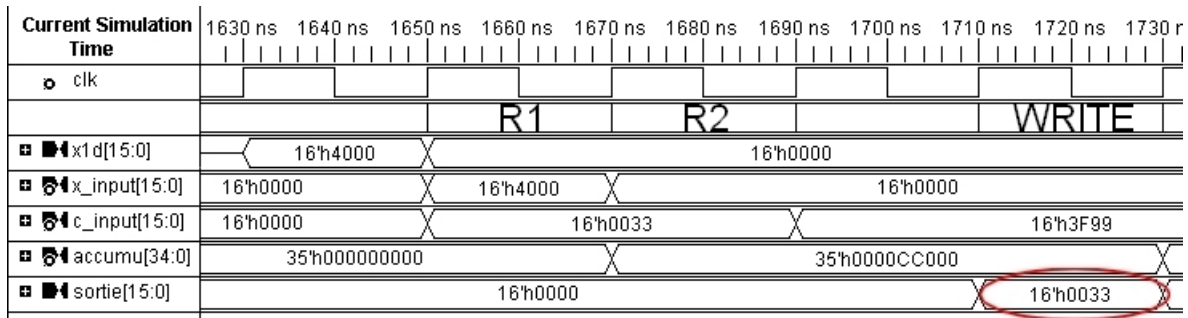


Figure III.12 – Chronogramme de simulation du calcul du filtre F1. Ri correspond aux accès RAM de la figure III.10, $x1d[15 : 0]$: entrée du filtre, x_input et c_input : valeurs des RAMs $x[n-1]$ ou $y[n-1]$ et des coefficients, $accumu[34 : 0]$: valeur de l'accumulateur et $sortie$: résultat du filtre F1.

Nous pouvons noter que les différentes étapes du calcul sont conservées ainsi que le timing de 320 ns. En ce qui concerne la justesse des calculs nous avons vérifié le calcul effectué en simulation dont l'équation mathématique est :

$$\begin{aligned}
 y[n] &= 1 \times 0,003112792968750 + 0 \times 0,003112792968750 + 0 \times 0,993713378906250 \\
 \Leftrightarrow y[n] &= 0,003112792968750 = \$0033 \quad \text{(III.c)}
 \end{aligned}$$

Or le résultat que l'on trouve avec la simulation ($sortie[15 : 0]$) est identique à celui trouvé précédemment. Nous avons bien sûr continué l'expertise sur plusieurs séries de simulation en comparant les différents résultats obtenus par la simulation et la théorie.

En ce qui concerne le seuillage dans sa globalité on se rend compte que le temps annoncé est le même que celui de la figure III.8B. La figure III.13 propose un diagramme montrant le flot complet de traitement des données sur une période d'échantillonnage. Le signal de *Scan done* autorise le début du traitement. Le remplissage de la *RAM échantillons* ainsi que le *calcul en ondelette* et le *calcul du seuil* sont présentés. La durée totale pour le traitement de 64 canaux est de 92,16 μ s.

Des tests sur des périodes beaucoup plus longues ont montré que le seuil évoluait en fonction du niveau de bruit en entrée. Par conséquent du point de vue de la simulation le calcul de la SWT ainsi que le seuillage sont fonctionnels. Il reste encore à développer le module d'acquisition afin de pouvoir implémenter notre modèle de détection et pouvoir faire des séries de test pratiques sur des signaux provenant de générateurs.

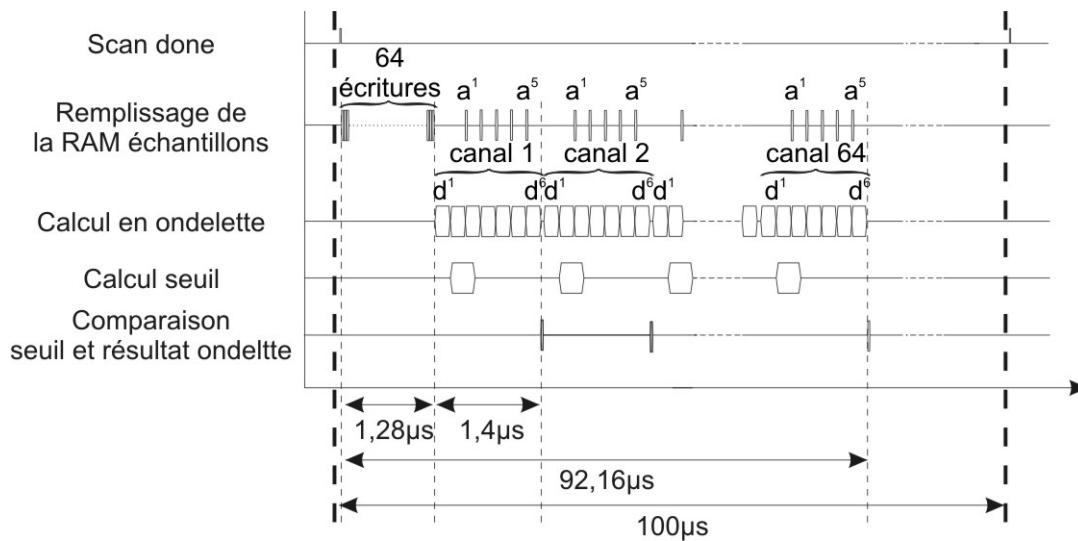


Figure III.13 – Flot complet de traitement des données sur une période d'échantillonnage

4 Modules d'acquisition

Selon les besoins inhérents à la mise en place de notre système de détection, nous avons dû proposer plusieurs méthodes d'acquisition de signaux biologiques. On peut tout de même les classer en deux grandes familles : l'acquisition *off-line* (avec des signaux biologiques pré-enregistrés) et l'acquisition *on-line* (avec des signaux biologiques acquis en temps réel) sur un ou plusieurs canaux.

4.1 L'acquisition *off-line* : Système de vérification fonctionnelle

Le but de l'acquisition *off-line* est d'envoyer vers la carte FPGA des données biologiques issues de fichiers pré-enregistrés sur PC par le biais d'une liaison série. Ces données sont issues de données expérimentales. L'intérêt de ce module est de connaître exactement la valeur de l'échantillon transmis vers le bloc de détection. Sa particularité est qu'il comporte en son sein le protocole de configuration des différents paramètres de détection. Par conséquent il joue aussi un rôle d'interface utilisateur. Cette acquisition permet de caractériser et mettre à l'épreuve notre système de détection sans aucune incertitude sur la validité des données en entrée. Par l'intermédiaire d'une liaison UART, d'une interface de transfert de données sur PC (Hyper Terminal) et d'une machine d'état décodant le protocole de communication sur le FPGA, il est possible d'envoyer des données correspondant au signal biologique codées sur 16 bits. Par conséquent, en aménageant une suite logique de caractères, nous pouvons coder les données d'un échantillon ou les différents paramètres de la détection sur le FPGA nécessaires au calcul.

Chapitre III. Au coeur de l'implémentation matérielle

Cette suite logique de caractères est écrite dans un fichier de lancement (lancement.txt) dont un exemple est présent ci-dessous :

Listing III.1 – Lancement.txt

```
1 r
  a
  0010110101000001;000111;1
  0010110101000001;000110;1
  0000000000000000;000101;1
6 0000000000000000;000100;1
  0000000000000000;000011;1
  0000000000000000;000010;1
  0000000000000000;000001;1
  0000000000000000;000000;1
11 d
  1101001010111111;000111;1
  0010110101000001;000110;1
  0000000000000000;000101;1
  0000000000000000;000100;1
16 0000000000000000;000011;1
  0000000000000000;000010;1
  0000000000000000;000001;1
  0000000000000000;000000;1
  e
21 0001000011001101;110000;1
  c
  000000
  .....
  .....
26 .....
```

La machine d'état présente sur le FPGA décode le message afin de le transmettre au reste du système. Nous aurions pu coder nos échantillons en ASCII pour une meilleure utilisation de la bande passante mais cela aurait demandé une machine d'état plus performante et complexe. Or le but du système était d'envoyer le plus simplement possible les échantillons vers le système,

et donc nous avons préféré utiliser une machine d'état plus simple comportant cinq grandes actions :

- r : correspond au reset mettant à zéro tous les paramètres de la détection et de l'acquisition
- a et d : Ces lettres précisent que les 8 lignes qui suivent correspondent à la description des 8 coefficients de détails et d'approximations des filtres représentant l'ondelette mère (8 pour a et 8 pour d) Ils sont codés comme suit :

16 bits de données ; adresse d'enregistrement dans la RAM ondelette ; écriture

- e : Cette lettre indique que la ligne qui suit correspond au information d'un échantillon. Il est codé comme suit :

16 bits de données ; adresse d'enregistrement dans la RAM échantillons ; écriture

- c : Cette lettre précise que la ligne qui suit correspond au numéro d'échantillon (codé sur 6bits) et autorise le début du calcul de la SWT pour effectuer la détection

En continuant l'écriture de ce fichier de lancement pour tous les échantillons du signal biologique, le système est mis à l'épreuve et nous pouvons vérifier son fonctionnement. Nous verrons les résultats obtenus dans le prochain chapitre. Par contre, pour procéder à une détection en temps réel sur des signaux vivants, ce module n'est pas du tout adapté. Il faut donc envisager une autre méthode d'acquisition.

4.2 L'acquisition *on-line*

L'acquisition *on-line* permet de procéder à une acquisition et une transmission des données provenant de signaux analogiques. La procédure consiste à transformer des données analogiques (signaux biologiques provenant du MEAs ou signaux pré-enregistrés sur un générateur de basse fréquence GBF) puis à les convertir en données numériques utilisables par le FPGA. Pour ce faire, nous utilisons une machine d'état qui va contrôler des ADCs (Analog to Digital Converter) afin de procéder à la conversion analogique/numérique.

Le premier type de système d'acquisition *on-line* a été développé sur un kit de développement contenant un FPGA de type Spartan 3A ainsi qu'un ADC 12bits. En amont du kit de développement, une étape d'adaptation analogique est nécessaire. Les cellules biologiques sont déposées sur un MEA afin d'en extraire l'activité électrique. L'activité est pré-amplifiée au plus près du MEA afin de minimiser le bruit pour être ensuite envoyée vers une étape de

mise en forme du signal (amplification variable et un offset de 1.25V) obligatoire pour une conversion analogique/numérique à partir des ADCs présents sur la carte de développement. Un microcontrôleur (μp), commandé par une liaison UART et implémenté sur le FPGA, centralise les commandes dédiées au contrôle de l'unique canal d'acquisition, gère l'étape de détection ainsi que les DACs (digital to analog converter) permettant de visualiser les différents signaux internes du système de détection. Le codage UART des différentes informations est le même que celui utilisé par le système d'acquisition *off-line* présenté précédemment. Par conséquent le microcontrôleur par le biais de sa liaison UART propose aussi une interface utilisateur assez performante.

Le deuxième système d'acquisition *on-line* a été réalisé afin d'augmenter le nombre de canaux et ainsi procéder à une analyse temps réel sur FPGA. Nous avons réalisé une carte d'acquisition baptisée THETYS. Comme pour le premier système d'acquisition géré par le microcontrôleur, le système se compose d'un MEA et d'un pré-amplificateur. On procède à l'acquisition des 64 canaux par une mise en parallèle de 8 blocs de 8 canaux avec multiplexage temporel sur une période d'échantillonnage dans chaque bloc. Après cette étape, les signaux analogiques subissent une mise en forme (offset et amplification) afin de s'adapter à la dynamique des ADCs qui vont convertir les signaux analogiques en données numériques. Dans la dernière étape le FPGA récupère ces données numériques ainsi que le signal de contrôle marquant la fin de l'acquisition des 64 canaux.

5 Interfaces utilisateurs

Notre objectif est de réaliser un système de détection reconfigurable. Par conséquent il faut imaginer des moyens de modifier et de visualiser les différents paramètres de détection. Pour cela nous avons développé plusieurs outils issus de l'expérience acquise auprès des différents manipulateurs de système d'acquisition de signaux biologiques.

5.1 Paramétrage des données

Pour configurer les paramètres de la détection à la volée, nous utilisons différents jeux de boutons et d'interrupteurs. Le gain G2 du seuil ainsi que la vitesse d'affichage des données sont contrôlés par ce moyen. Pour des paramètres nécessitant plus de ressources (coefficients de l'ondelette mère), nous utilisons une configuration logicielle par le biais d'une interface UART et d'un terminal.

5.2 La visualisation des données

Pour de visualiser les différents paramètres de la détection (les 64 signaux d'entrées, les seuils, les niveaux de détail où les seuils sont appliqués et la détection en elle même) nous avons mis en place, dans le cadre d'un stage ingénieur, un système de visualisation de données sur écran VGA. Nous avons fait le choix de contrôler un écran VGA par le biais d'un FPGA afin d'afficher le plus lisiblement possible les différents paramètres de la détection.

Ensuite afin d'informer l'utilisateur du coefficient de multiplication du seuil (G2), nous l'avons affiché en utilisant un écran LCD présent sur les cartes de développement. Au fur et à mesure de l'évolution du projet, nous avons décidé de nous passer de ce type d'interface et tout afficher sur l'écran VGA.

5.3 Le stockage sur carte SD

Lors de nos expériences avec les biologistes, nous avons remarqué qu'il était important de conserver les données afin de les ré-étudier après l'acquisition et éventuellement vérifier échantillon par échantillon le bon déroulement des calculs. Par conséquent une interface permettant de stocker les différents éléments de la détection sur carte mémoire SD a été développée. Ainsi après l'expérience, il est possible de visualiser les données extraites de la détection.

Au cours de ce chapitre, nous avons pu détailler l'implémentation matérielle des différents blocs appartenant à notre système. Les blocs d'acquisition, de traitement du signal et d'interface utilisateur ont été présentés, et simulés afin d'optimiser leur fonctionnalité lors des futures expériences sur tissu vivant. Le FPGA nous est apparu comme une solution adaptée pour réaliser notre système de détection. Les principales contraintes d'implémentation se situent au niveau du temps réel, de l'utilisation mémoire et des multiplieurs. La structure des blocs appartenant au système a donc été revue en conséquence. Dans le prochain chapitre, nous verrons les différents systèmes conçus à partir des ces blocs et leurs performances respectives.

Chapitre IV

Expériences et résultats

Le chapitre précédent vient de présenter en détail les différents modules nécessaires à la réalisation de notre système de détection. Ils ont été expliqués, simulés mais jamais assemblés. Ce chapitre vient donc faire la synthèse de ces modules en vue de la caractérisation fonctionnelle sur signaux biologiques du système global. Nous présenterons par ordre de conception les différents systèmes MultiMed réalisés durant la thèse ainsi que les résultats obtenus. Le tableau IV.1 propose les principales caractéristiques des différentes versions du système que nous présenterons en détail dans les paragraphes suivants. La validation des résultats se fera en effectuant la comparaison entre le modèle MATLAB présenté dans le chapitre II et les résultats expérimentaux obtenus par les différentes versions du projet MultiMed.

Tous les résultats statistiques obtenus avec des enregistrements bruités ou non ont été validés manuellement avec la participation des biologistes. Chaque PA détecté par le système a été identifié et labéllisé comme tel par un biologiste spécialiste. Sera considéré comme faux positif tout artéfact ayant été détecté par un système alors qu'il ne correspond pas à un PA.

1 NeuroBetaMed_RS232

1.1 Présentation

NeuroBetaMed_RS232 est la première plateforme de détection de PAs en temps réel développée au cours de la thèse. Elle permet d'effectuer une acquisition *off-line* sur un canal (en dehors de la chaîne d'acquisition) suivie d'une détection par ondelette et d'un seuillage adaptatif. Ce type d'architecture permet de vérifier le fonctionnement des modules de détection et de seuillage en maîtrisant les données traitées.

D'un point de vue matériel nous utilisons une carte de développement "Spartan3A FPGA starter kit". Un câble RS-232 connecte un PC à la carte FPGA ; le PC envoie les données du signal biologique et les différents paramètres de la détection. Un oscilloscope permet de

Tableau IV.1 – MultiMed : tableau récapitulatif des systèmes et des tests effectués

Chap IV	Nom de la plateforme	Type d'acquisition	Matériel électronique	Tests vivant
section 1	NeuroBetaMed _Rs232	- <i>Off line</i> - Liaison RS232 - 1 canal	- Xilinx Spartan 3A starter kit	Enregistrements : - Cellules pancréatiques - Neurones artificiels
section 2	NeuroBetaMed	- <i>On line</i> - 1 canal	- Xilinx Spartan 3A starter kit	- Cellules pancréatiques primaires et clonales - Enregistrement neurones artificiels
section 3	NeuroBetaMed _XL	- <i>On line</i> - 64 canaux	- Avnet virtex 5 LX50 evaluation board - THETYS	- Cellules pancréatiques primaires et clonales <i>in vitro</i> - Cellules neuronales de la moelle épinière de souris <i>ex vivo</i>

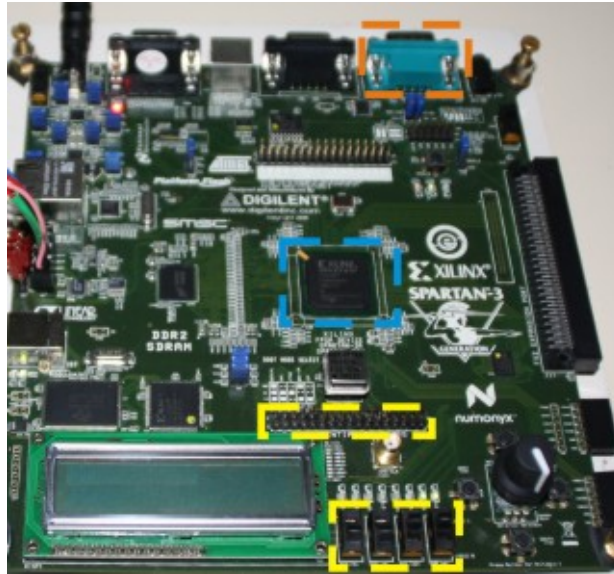


Figure IV.1 – NeuroBetaMed_Rs232. En jaune : interface utilisateur (sorties et interrupteurs), en bleu : FPGA et en orange : connexion RS-232

visualiser les résultats de détection et un interrupteur propose à l'utilisateur de choisir entre deux configurations de seuillage (un seuillage effectué sur le niveau de détail 3 ou 6). La figure 4.1 présente un aperçu physique de la carte de développement.

1.2 Résultats

Nous avons tout d'abord envoyé un signal très peu bruité (SNR d'environ 9 dB (figure IV.2.A)) comprenant 10 spikes créés artificiellement dont nous connaissons parfaitement la localisation temporelle. Le but est de comparer la détection effectuée par notre circuit (figure IV.2.C) et la détection sous MATLAB (figure IV.2.B).

Le signal envoyé est préalablement normalisé et ses valeurs codées sur 16 bits sont transmises au FPGA préalablement. Ainsi nous maîtrisons parfaitement le type de données et leur fréquence d'arrivée sur la carte FPGA ce qui nous permet de nous concentrer uniquement sur le résultat de la détection. Sur ce point, la sortie de notre circuit correspond exactement à la détection par ondelettes sous MATLAB et nous permet d'en déduire que la détection se déroule correctement. Ce premier test n'est qu'une illustration d'autres expérimentations menées sur ce types de signaux peu bruités ($7\text{ dB} \leq \text{SNR} \leq 10\text{ dB}$) et nous permet de nous rassurer quant au fonctionnement du seuillage adaptatif. Il n'est pas suffisant pour démontrer l'intérêt et la puissance du calcul par ondelettes.

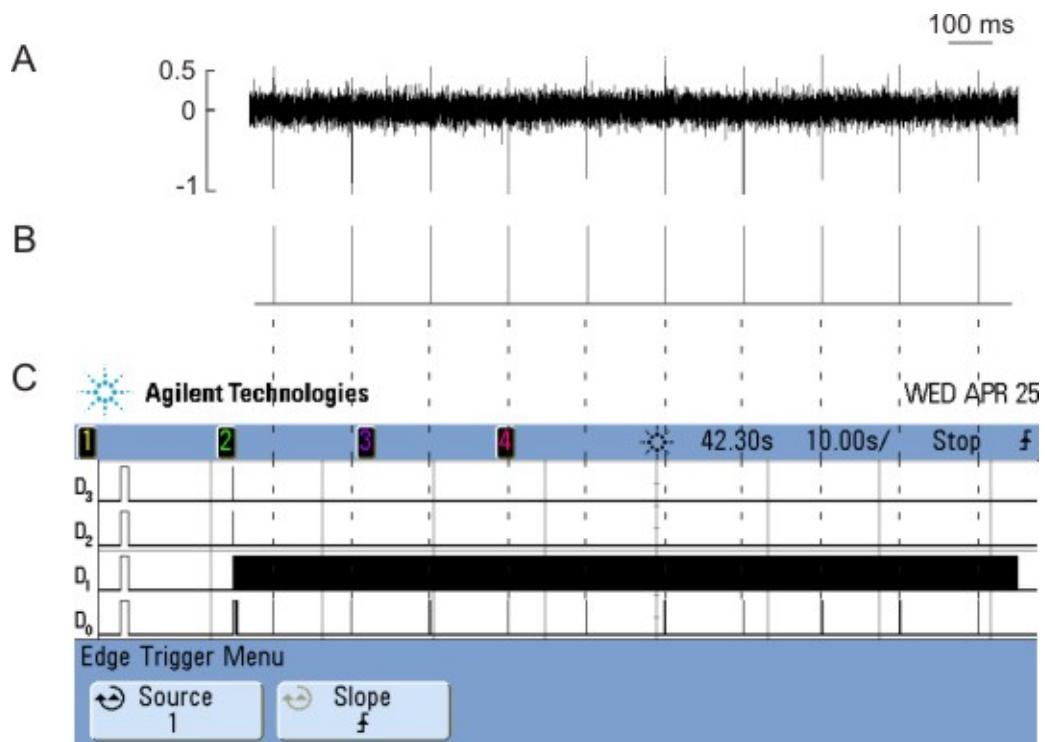


Figure IV.2 – Résultats NeuroBetaMed_Rs232 sur signal neuronal peu bruité (SNR=9) comportant 10000 échantillons : A) Signal neuronal normalisé et généré sous MATLAB, B) Résultats de la détection sur le niveau de détail 3 sous MATLAB, C) Résultats du calcul en ondelette et du seuillage sur le niveau de détail 3 sous NeuroBetaMed_RS232 (avec D_3 : Signal de début du calcul en ondelette, D_2 : Signal de début de l'enregistrement des coefficients d'approximations de l'ondelette mère, D_1 : Signal de début de l'enregistrement des coefficients de détail de l'ondelette mère et D_0 : Signal de détection)

Passons donc à un signal beaucoup plus bruité avec un SNR de 5 dB (figure IV.3), nous permettant ainsi de pousser notre système à ses limites de fonctionnement. De la même manière que précédemment, nous connaissons exactement la localisation temporelle de nos PAs et on peut donc évaluer très facilement la précision de la détection. Nous pouvons remarquer que sur le signal d'entrée (figure IV.3A) les PAs sont complètement invisibles et même un œil averti ne peut pas les repérer. Par conséquent, ce signal est un bon exemple pour prouver que notre système de détection par ondelette permet de dissocier les PAs du bruit. En observant la détection par ondelette effectuée par le logiciel MATLAB (figure IV.3.B) on obtient 2 fausses détections (marques rouge) et un oubli de PA (marque bleue). On remarque qu'un résultat identique est obtenu par l'intermédiaire de notre carte FPGA (figure IV.3.C). Cet exemple illustre le fait que l'utilisation d'un seuil adaptatif sur le niveau 3 de détail permet de distinguer une grande partie des PAs présents dans un signal neuronal même si ce dernier est extrêmement bruité.

Le but du test suivant est de montrer que notre système est entièrement configurable. Ainsi nous pouvons passer à la volée de 2 à 3 jusqu'à 6 pour le niveau de détail du seuillage. La figure IV.4 présente les résultats du même test que précédemment mais avec des signaux provenant d'enregistrement de cellules pancréatiques où une détection sur le niveau 6 de détail est nécessaire. On peut noter que, là encore, les PAs ne sont pas évidents à distinguer et qu'un seuillage effectué sur ce signal brut pourrait engendrer des erreurs de détection nuisant par exemple au contrôle d'une pompe à insuline. Les résultats de détection sur cet exemple sont conformes. Par conséquent sur ces exemples, la détection de PAs en milieu bruité ou non, notre système fonctionne comme le modèle MATLAB l'avait prévu.

1.3 Discussion et perspectives

Ces trois exemples sont des démonstrations de la fonctionnalité de notre système. Pour comparer le modèle MATLAB et le circuit, nous avons réalisé une série de mesures. Elles tendent à démontrer que notre système fonctionne avec des performances en termes de détection conformes au modèle théorique. Nous pouvons en déduire que NeuroBetaMed_Rs232 remplit l'objectif qui lui a été fixé et permet de valider *in situ* notre étude théorique. En revanche, d'un point de vue expérimental, la liaison RS-232 constitue un goulet d'étranglement et diminue débit du flux. Ceci, nous empêche donc d'effectuer un traitement *on-line*. De plus, dans son architecture, le système est trop rigide et ne nous permet pas de reconfigurer rapidement notre configuration de détection. Enfin l'interface utilisateur est vraiment limité : il est impossible de visualiser les signaux intermédiaires (niveau de détail sur lequel le seuil est calculé, valeur du seuil *etc.*), de connaître l'ondelette mère utilisée ou le niveau du seuil. Elle

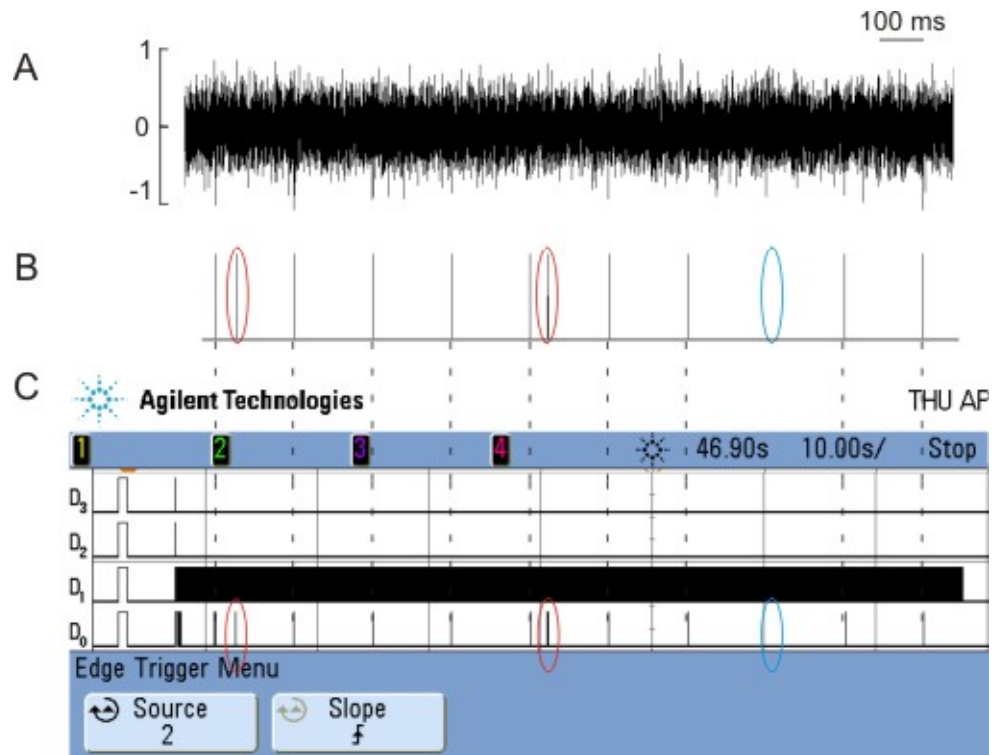


Figure IV.3 – Résultats NeuroBetaMed_Rs232 sur signal neuronal bruité (SNR=5) : comportant 10000 échantillons A) Signal neuronal normalisé et généré sous MATLAB, B) Résultats de la détection sur le niveau de détail 3 sous MATLAB, C) Résultats du calcul en ondelette et du seuillage sur le niveau de détail 3 sous NeuroBetaMed_RS232 (avec D_3 : Signal de début du calcul en ondelette, D_2 : Signal de début de l'enregistrement des coefficients d'approximations de l'ondelette mère, D_1 : Signal de début de l'enregistrement des coefficients de détail de l'ondelette mère et D_0 : Signal de détection). Marque rouge : fausse détection, marque bleue : PA non détecté

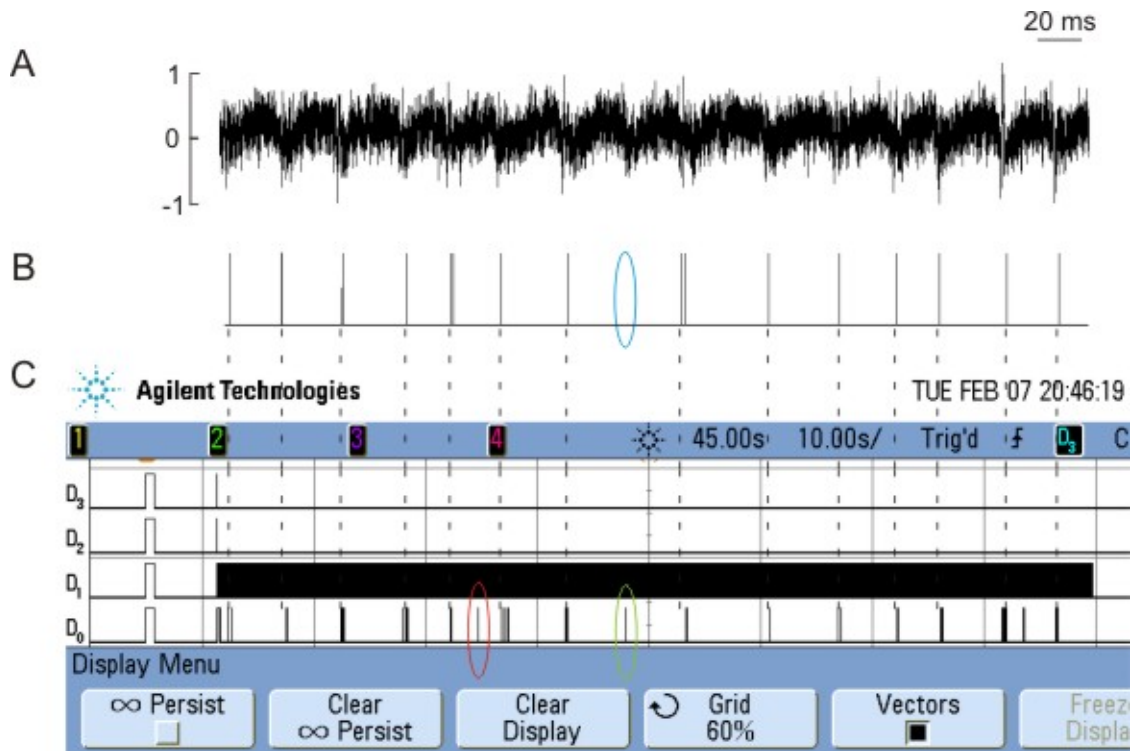


Figure IV.4 – Résultats NeuroBetaMed_Rs232 sur signal pancréatique bruité : A. Signal pancréatique brut normalisé et généré sous MATLAB, B) Résultats de la détection sur le niveau de détail 6 sous MATLAB, C) Résultats du calcul en ondelette et du seuillage sur le niveau de détail 6 sous NeuroBetaMed_RS232 (avec D₃ : début du calcul en ondelette, D₂ : début de l'enregistrement des coefficients d'approximations de l'ondelette mère, D₁ : début de l'enregistrement des coefficients de détail de l'ondelette mère et D₀ : résultats de la détection). Marque rouge : fausse détection, marque bleu : PA raté

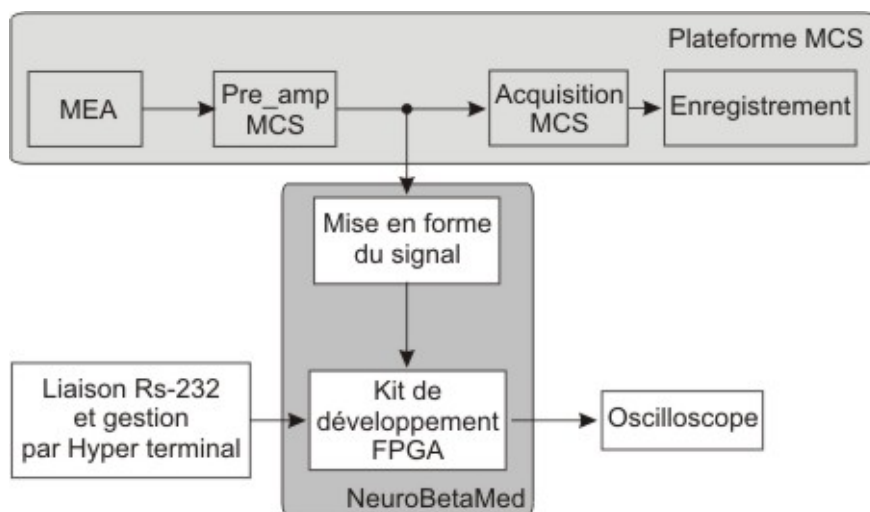


Figure IV.5 – Configuration expérimentale pour l'acquisition et la détection comparées de PAs par l'intermédiaire de NeuroBetaMed et la plateforme MCS

sera donc considérablement revue à travers une nouvelle génération de cartes .

2 NeuroBetaMed

Après avoir validé notre système de détection, nous avons étendu sa reconfigurabilité et amélioré les différents systèmes d'acquisition et d'interface utilisateur en mettant au point la carte NeuroBetaMed.

2.1 Présentation

NeuroBetaMed propose une détection en ondelette temps réel et *on-line* sur un canal. Le premier objectif est de pouvoir récupérer un signal analogique provenant de la *plateforme MCS*, composée d'un MEA, d'un pré-amplificateur et d'un filtrage passe-bande (0,1 Hz-3 kHz). Ensuite, il faut convertir ce signal en binaire afin que le FPGA puisse effectuer les calculs. L'architecture du système d'acquisition correspond à la première présentée au chapitre III.4 (*banc de mise en forme + kit FPGA*). Enfin, dans un souci critique, nous avons comparé notre système de détection de PAs à celui utilisé généralement par les biologistes *plateforme MCS*. Pour cela, nous avons mis en parallèle NeuroBetaMed et le système MCS pour faire une acquisition et une détection de PAs comparées comme illustré par la figure IV.5.

Dans le développement de NeuroBetaMed, nous avons pris en compte le fait que faire des tests sur des cellules vivantes est à la fois un travail long et compliqué en ce qui concerne la

Tableau IV.2 – Occupation du FPGA Spartan 3A et consommation du kit Spartan 3A

Occupation logique	Occupation totale	μP	SWT	Seuillage
Flip Flop	1238	619	136	483
4 input LUT	2081	1040	520	521
Multiplieur	4	0	1	3
RAM/ROM (kbits)	22,722	14,3	8,5	0
Fréquence maximum (MHz)	117,122	-	-	-
Consommation du kit FPGA (Watt)	2,5	-	-	-

préparation des cellules. Nous avons donc conçu notre carte pour pouvoir effectuer d'une part des enregistrements de signaux *in vitro* acquis par l'intermédiaire de MEAs, mais aussi traiter des signaux pré-enregistrés sur générateurs de tension GBF. Le fait de pouvoir utiliser notre système de détection avec un GBF nous a permis de faire tous les tests préliminaires nécessaires sans mobiliser une équipe de biologistes pour la préparation des cellules. L'oscilloscope ainsi que la liaison RS-232 sont des interfaces utilisateurs nous permettant réciproquement de visualiser les sorties du circuit et de reprogrammer à la volée notre détection. La figure IV.6.A présente la plateforme NeuroBetaMed fabriquée et la figure IV.6.B permet de visualiser le contexte dans lequel elle est utilisée.

2.2 Résultats

Résultats d'implémentation

Nous avons utilisé pour NeuroBetaMed un FPGA de marque Xilinx (Spartan-3A XC3S700). Le système est configuré pour fonctionner avec une horloge cadencée à 50 Mhz. Afin de stocker les 5 niveaux d'approximation voulus, nous utilisons un bloc RAM de 512×16 bits. Deux autres RAMs ($2 \times (8 \times 16$ bits)) sont dédiées au stockage des coefficients de l'ondelette mère. En termes d'occupation du Spartan-3A xc3s700, la table IV.2 résume le coût logique post-synthèse de NeuroBetaMed.

La ressource critique de notre projet est la RAM qui est utilisée principalement pour le

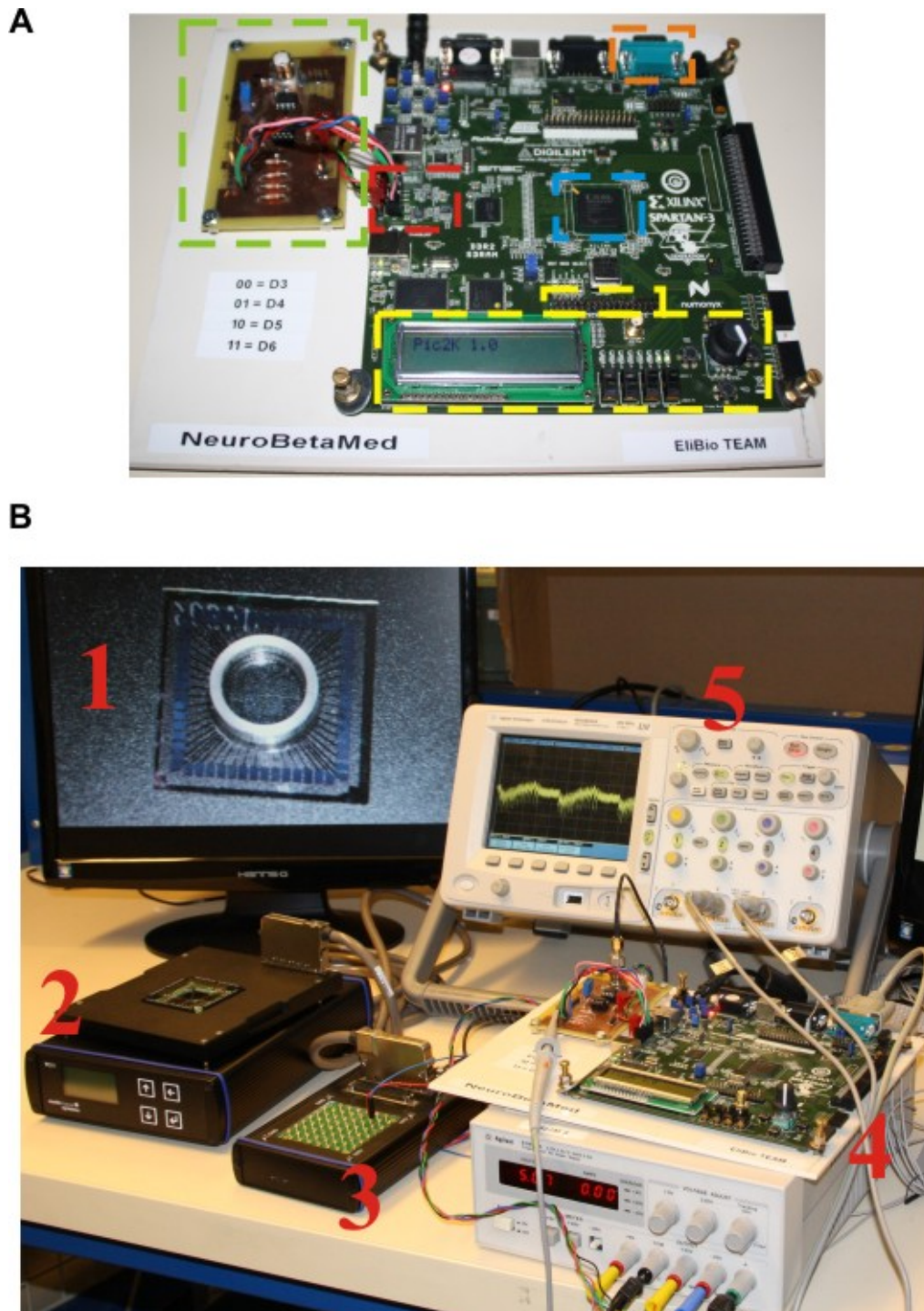


Figure IV.6 – NeuroBetaMed. A) Carte NeuroBetaMed seule. En vert : carte de mise en forme, en rouge : la conversion Analogique/numérique, en jaune : interface utilisateur (sorties, interrupteurs et écran LCD), en bleu : FPGA et en orange : connexion RS-232. B) Environnement d'utilisation. 1 : MEA où sont cultivées les cellules vivantes, 2 : lieu d'accueil du MEA avec une pré-amplification suivie d'un filtrage du signal, 3 : Extraction du signal analogique sur un canal vers NeuroBetaMed, 4 : NeuroBetaMed, 5 : Visualisation des signaux de sortie de la carte.

stockage des coefficients impliqués dans le calcul de la SWT. En effet, contrairement au μP (microprocesseur) qui a un coût fixe, la taille des RAMs de la SWT est directement liée au nombre de canaux : pour n canaux calculés, la taille RAM nécessaire pour la SWT est de $(0.25 + n \times 8)$ *kbits*. Pour chaque niveau de détail en moins, l'utilisation de la RAM est réduite de $(0.25 + n)$ *kbits*. Enfin l'utilisation mémoire peut être réduite en utilisant une fréquence d'échantillonnage inférieure. Malheureusement, nous n'avons pas pu faire d'études sur ce sujet à cause du matériel MCS qui ne peut pas être reconfiguré pour une autre fréquence d'échantillonnage.

Résultats d'acquisition

Ces premiers résultats sont importants pour la suite de notre projet. En effet, sur NeuroBetaMed_Rs232, nous avons supposé que la détection était correcte en ne visualisant que la sortie de la détection, sans jamais pouvoir étudier le résultat du calcul du seuil et de la SWT qui sont maintenant accessibles. La figure IV.7 présente les signaux du seuillage adaptatif et automatique sur un signal généré par des îlots de cellules pancréatiques avec un SNR important (PAs distincts fortement du bruit, SNR=9 dB). 30 ms sont nécessaires entre le début de la détection et la stabilisation du seuil, ce retard est dû à la constante de temps présente dans le filtre F1 (voir figure II.9). On remarque que sur la sortie du sixième niveau de détail (figure IV.7.B), les PAs sont nettement extraits et que le bruit est considérablement réduit, ce qui nous permet d'y effectuer une détection 100% correcte.

Comme dans la partie précédente passons à un signal plus bruité (SNR=7). La figure IV.8 présente le résultat d'une expérience visant à démontrer la capacité de notre système à détecter des PAs en milieu extrêmement bruité. Dans la figure IV.8.A, 9 PAs sont présents sur un signal pancréatique et sont indiqués par une flèche en haut de la figure. Afin de bruiteur encore plus le signal nous y avons ajouté un bruit blanc gaussien comme expliqué dans le chapitre II.3.1 (figure IV.8.B). Ce signal est ensuite injecté dans un GBF pour être finalement appliqué à notre circuit de détection. Sur 9 PAs présents, 8 sont détectés alors que sur la figure IV.8.B, il est impossible, même à l'œil, de distinguer les PAs. Cet exemple montre les bons résultats de notre détection en ondelette avec un SNR réduit.

Dans notre présentation théorique de la transformée en ondelette, nous avons pointé le fait que le choix de l'ondelette mère doit être fait de manière très attentive : plus l'ondelette mère ressemble au PA que l'on veut détecter, plus la détection est efficace. La figure IV.9 présente le taux de détection suivant 5 types d'ondelettes mères. Nous remarquons que l'ondelette *Haar* ainsi qu'une ondelette que nous avons fabriqués à partir des PAs pancréatiques enregistrés (*bêta*)

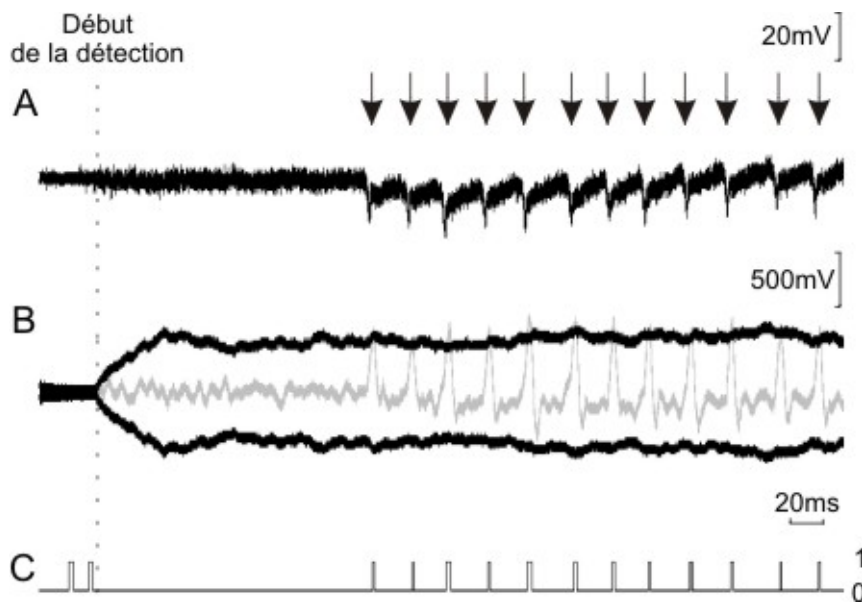


Figure IV.7 – Sorties de NeuroBetaMed : A) signal pancréatique brut avec un haut SNR (SNR=9), B) sixième niveau de détail d^6 de la SWT (gris) et son seuil adaptatif (noir) et C) sortie du circuit de détection. On remarque deux fausses détection en début de détection dû au retard d'établissement du seuil.

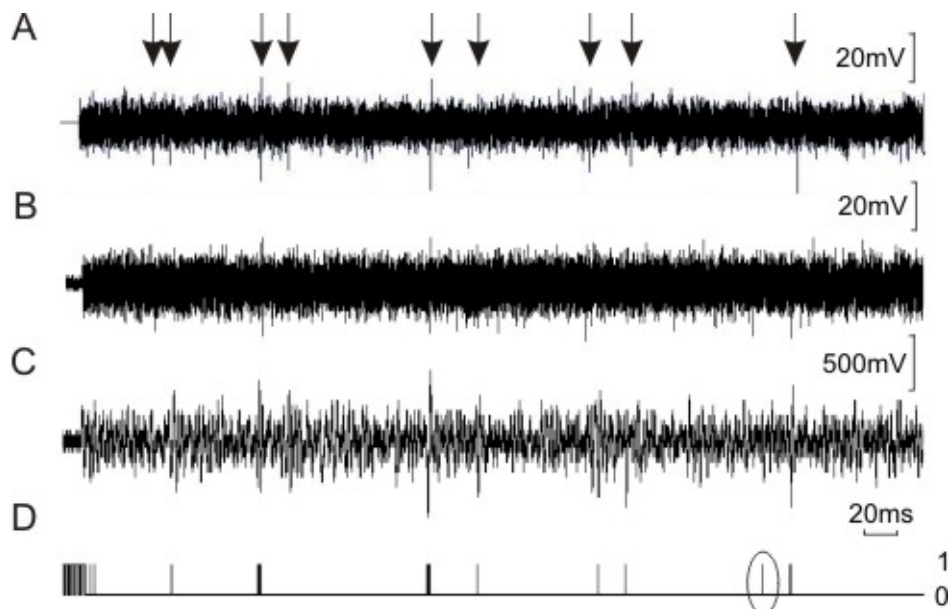


Figure IV.8 – Sorties de NeuroBetaMed : A) signal pancréatique brut avec un haut SNR (SNR=7), B) signal pancréatique avec un bruit blanc gaussien ajouté, C) sixième niveau de détail d^6 de la SWT et D) sortie du circuit de détection

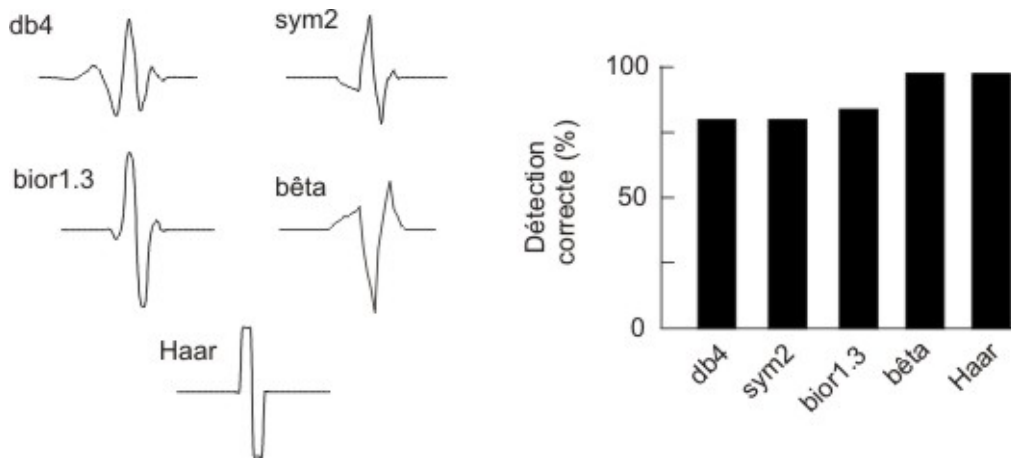


Figure IV.9 – Les ondelettes mères et leurs performances pour la détection de PAs provenant de cellules pancréatiques. A) les cinq ondelettes mères testée et B) résultats de la détection (50 essais sur un signal de durée 1,8 s)

proposent le meilleur taux de détection confirmant ainsi l’hypothèse formulée précédemment.

Nous venons de présenter des résultats sur des exemples dédiés à une démonstration fonctionnelle purement électronique de notre circuit. Maintenant voyons l’exploitation de notre circuit lors d’une série de tests menés dans le cadre d’une expérience biologique. Le but est d’une part de démontrer que notre système embarqué a des performances équivalentes voire supérieures au système logiciel utilisé par les biologistes (MCS) ; d’autre part, de démontrer qu’il était possible d’enregistrer l’activité des cellules bêtas sur MEAs et que leur activité électrique varie selon la concentration de glucose et d’hormones. La figure IV.10 résume l’expérience menée et est extraite d’une de nos publications de [Raoux et al., 2012] : la figure IV.10.A montre la décomposition en ondelette (ondelette mère *Haar*) effectuée par notre système sur un exemple de signal pancréatique provenant d’une culture sur MEA et la figure IV.10.B rappelle notre méthode de détection avec son résultat. Enfin la figure IV.10.C propose les résultats statistiques et nous permet d’en tirer deux conclusions :

- Pour ce genre de signaux très bruités, une détection brute est quasiment inefficace et ne propose qu’un taux de détection assez bas (entre 50 % et 60 %). Les résultats statistiques montrent que l’acquisition et la détection effectuées par notre circuit sont tout à fait comparables à celles effectuées par un logiciel commercial.
- Il est tout à fait possible d’enregistrer des cellules pancréatiques sur MEA et la fréquence des PAs varie bien en fonction du taux de glucose. En l’occurrence nous pouvons observer (figure IV.10.C) une nette augmentation (de l’ordre de $\times 2$) de fréquence de PAs lorsque le taux de glucose passe de 3 mmol.l^{-1} (G3) à 15 mmol.l^{-1} (G15).

2.3 Discussion et perspectives

L'extraction en temps réel par un système de détection, implémenté sur FPGA, de PAs provenant de cellules pancréatiques cultivées sur MEAs vient d'être pour la première fois démontrée. Avec un taux de détection égal à celui obtenu par un système logiciel, notre système présente un avantage considérable en termes de consommation de ressources, de reconfigurabilité, et d'encombrement pour l'embarqué. En effet, notre système étant destiné à être utilisé pour des applications embarquées ou mobiles, l'encombrement ainsi que la consommation jouent pour nous un rôle prépondérant et restent nos principales préoccupations.

Maintenant que notre système est fonctionnel *on-line* (sur une chaîne d'acquisition) et en temps réel sur un canal, la troisième étape consiste à l'étude de la mise à grande échelle de notre système. Ceci permettra d'étudier plus précisément l'activité électrique des cellules ou d'un organe en obtenant une vision d'ensemble nécessaire à la caractérisation biologique. Nous avons vu qu'avec un FPGA fonctionnant à une fréquence d'échantillonnage de 10 kHz, nous pouvions faire l'acquisition de 70 canaux en gardant une architecture équivalente. Le système MCS utilisé nous fournissant 60 ou 64 canaux, nous avons décidé de procéder à l'acquisition de 64 canaux. Avec ce nombre de canaux en croissance, le matériel de visualisation des signaux, de détection et d'acquisition doit donc être repensé et modifié.

3 NeuroBetaMed_XL

Après avoir validé notre système de détection *on-line* sur des signaux biologiques, nous avons étendu notre système pour effectuer l'acquisition de 64 canaux. Ce changement nous a conduits à modifier notre système d'acquisition, de calcul par ondelette et d'interface utilisateur, donnant naissance à la plateforme NeuroBetaMed_XL.

3.1 Présentation

NeuroBetaMed_XL propose une détection *on-line* de signaux cellulaires, en temps réel sur 64 canaux. D'un point de vue matériel, l'accroissement de l'utilisation mémoire nous a poussés à choisir une autre carte de développement Xilinx dotée d'un FPGA plus puissant :

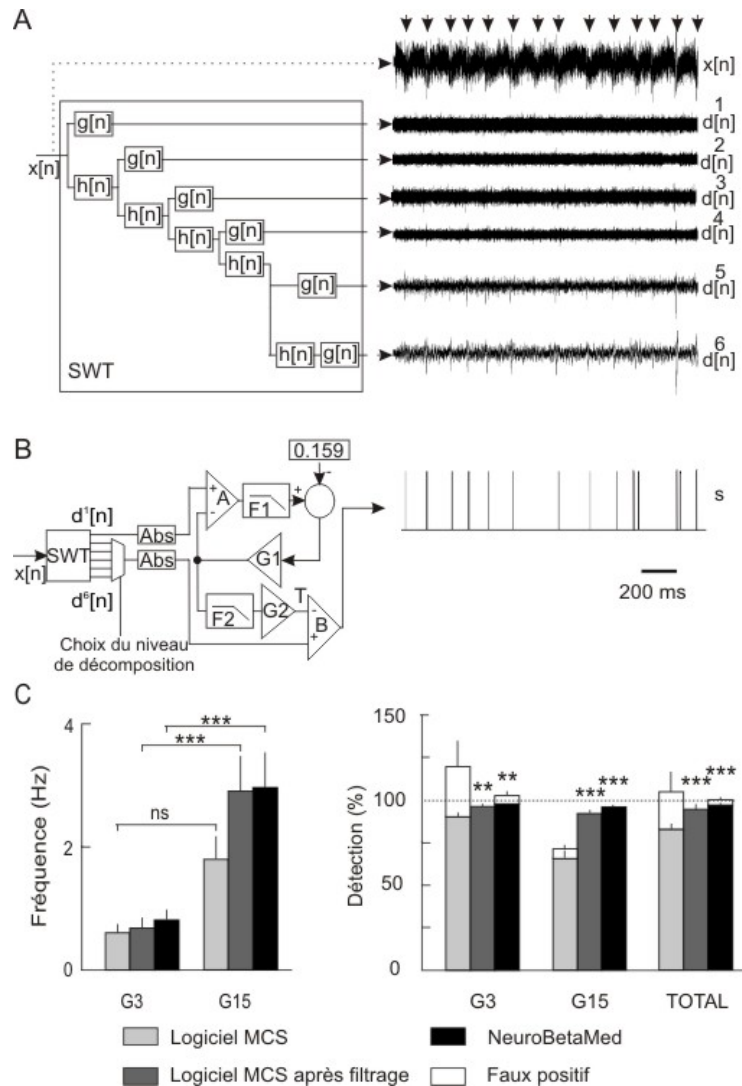


Figure IV.10 – Détection *on-line* de PAs sur des signaux bêta pancréatiques enregistrés à partir d'un MEA puis transmis vers NeuroBetaMed. A) Décomposition en SWT jusqu'au niveau 6 de détail (partie gauche) et allure temporelle des niveaux de détail correspondant à $d^1, d^2 \dots d^6$ (partie droite) avec le signal pancréatique d'origine $x[n]$. B) Structure de détection complète (partie gauche) et sortie de la détection correspondant (droite), C) Étude statistique sur la détection de NeuroBetaMed comparée à un seuillage brut et adapté par le logiciel MCS ; expériences menées avec un taux de glucose de 3 et 15 mmol.l^{-1} (G3 et G15), panel de gauche : fréquences moyenne des PAs à une concentration de glucose de G3 et G15 selon trois méthodes de détection, panel de droite : taux de détection des PAs à une concentration de glucose de G3 et G15 selon trois méthodes de détection. ** valeur $p < 0,01$, *** valeur $p < 0,001$ comparé à la condition logicielle voir définition figure II.12.

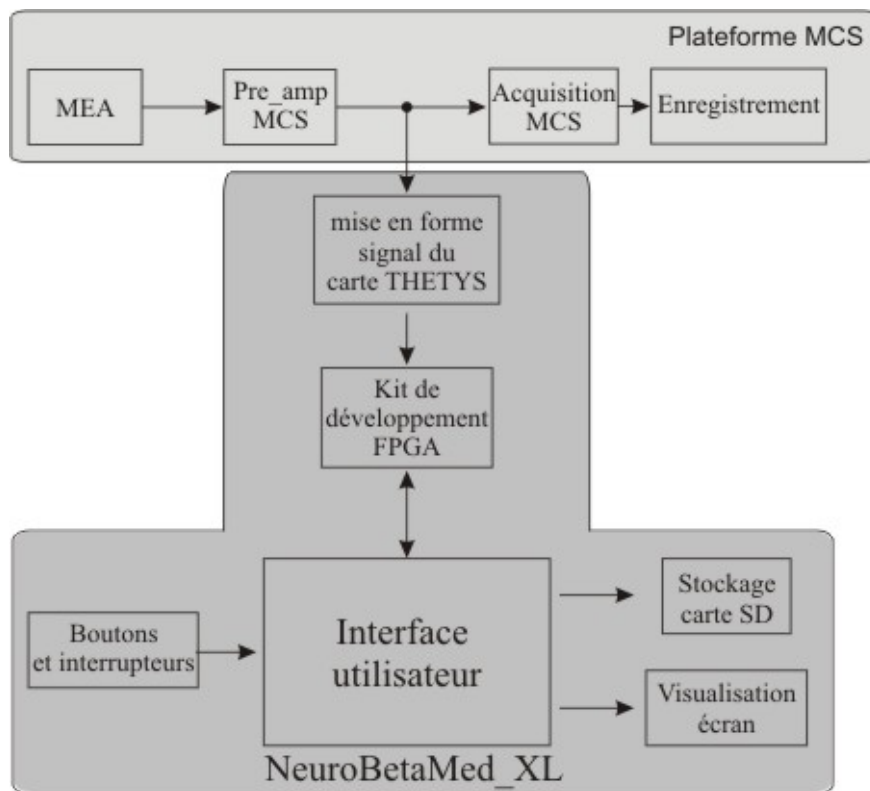


Figure IV.11 – Configuration expérimentale pour l'acquisition et la détection de PAs par l'intermédiaire de NeuroBetaMed_XL

un Virtex 5 XC5VLX50. Une carte appelée THETYS s'occupe de la partie acquisition sur 64 canaux comme expliqué dans le chapitre III.4.2. Contrairement à la version précédente où le bloc de détection dépendait du μp , dans cette version, il est entièrement autonome. Il ne reçoit de la part du bloc d'acquisition que le signal de fin de conversion et il s'assure de la bonne mise en forme des données ainsi que de la génération des signaux lui ordonnant de débiter le calcul par ondelette. L'interface utilisateur a été entièrement revue. A cause du nombre important de canaux, l'oscilloscope a été remplacé par un affichage sur écran VGA contrôlé par le FPGA. De plus un stockage sur carte mémoire SD a été prévu afin de pouvoir stocker les différents éléments de la détection. La figure IV.11 nous rappelle la configuration expérimentale de NeuroBetaMed_XL et la figure IV.12 présente sa configuration physique.

3.2 Résultats

NeuroBetaMed_XL a été testé à de multiples reprises et dans différentes configurations, que se soit avec des signaux pré-enregistrés sur GBF ou *in situ* avec des signaux biologiques

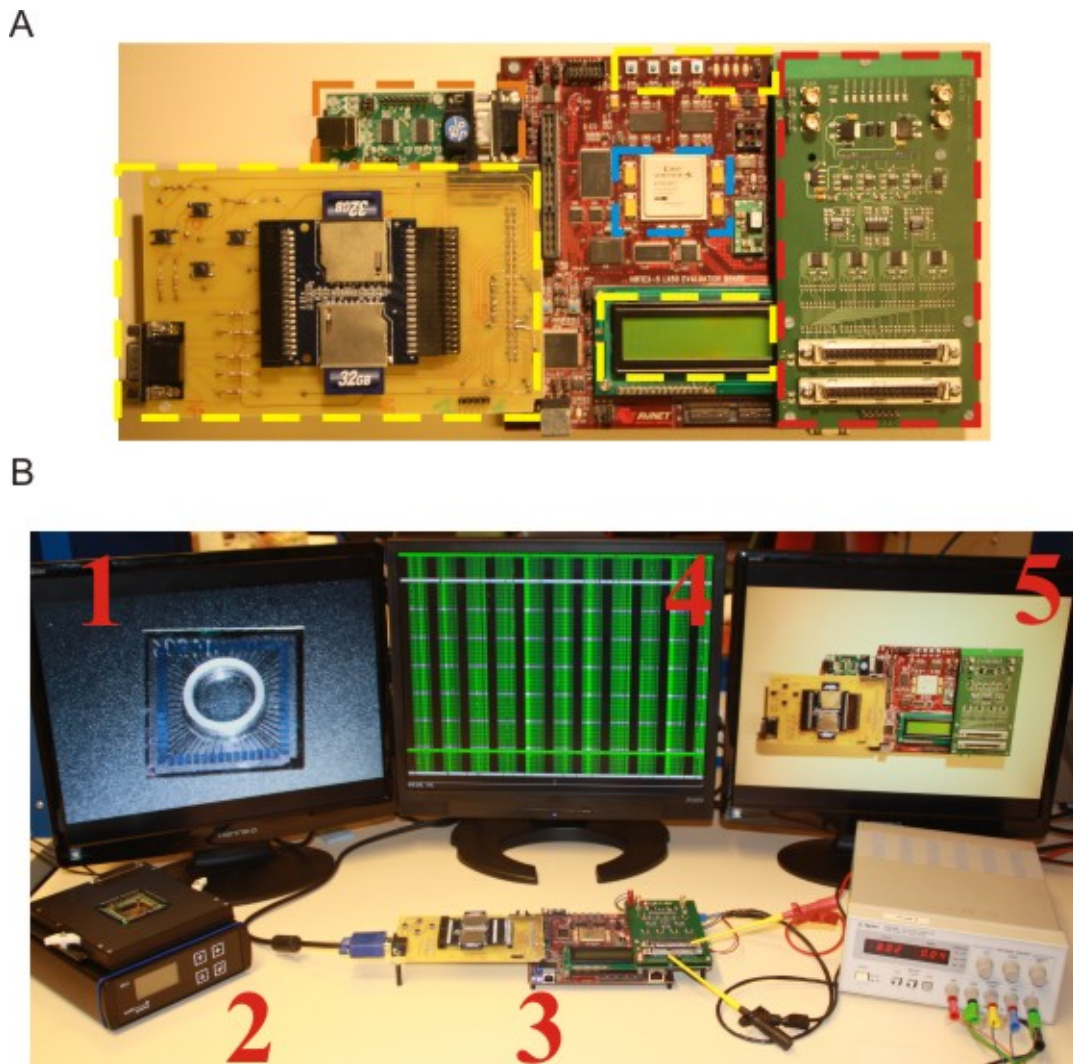


Figure IV.12 – NeuroBetaMed_XL : A) Carte NeuroBetaMed_XL seule : En vert : THE-TYS, carte de mise en forme et de conversion analogique numérique, en jaune : interface utilisateur (LCD, boutons et cartes SD), en bleu : FPGA et en orange : connexion RS-232. B) Configuration expérimentale. 1 : MEA où sont cultivées les cellules vivantes, 2 : lieu d'accueil du MEA avec une pré-amplification suivie d'un filtrage du signal, 3 et 5 : NeuroBetaMed_XL, 4 : Visualisation des 64 canaux de détection sur écran VGA

Tableau IV.3 – Occupation du FPGA Virtex 5 et consommation du kit FPGA virtex 5

Occupation logique	Occupation totale	Acquisition	SWT + Seuillage	Interface utilisateur
Flip Flop	2651	1235	376	1040
4 input LUT	5465	3461	687	1317
Multiplieur	3	0	3	0
RAM/ROM (kbits)	1296	648	576	936
Fréquence maximum (MHz)	117,122	-	-	-
Consommation du kit FPGA (Watt)	2,5	-	-	-

extraits d'un MEA. Dans cette partie, nous allons nous pencher plus précisément sur les tests effectués avec les biologistes, d'une part au laboratoire IECB sur des cellules pancréatiques et d'autre part au laboratoire INCIA sur la moelle épinière de souris.

Résultats d'implémentation

Nous avons implémenté l'architecture VHDL de NeuroBetaMed_XL à l'aide d'un FPGA (Virtex 5 XC5VLX50). Le système est configuré pour fonctionner avec une horloge de 100 MHz. Afin de stocker les 5 niveaux d'approximation voulus, nous utilisons un bloc RAM de $64 \times 512 \times 16$ bits. Deux autres RAMs ($2 \times (8 \times 16)$ bits) sont dédiées au stockage des coefficients de l'ondelette mère. En termes d'utilisation logique du Virtex 5, la table IV.3 résume l'occupation post-synthèse de NeuroBetaMed_XL.

Lors de notre campagne expérimentale, qui s'est étalée de février à juin 2012, nous avons pu tester NeuroBetaMed_XL sur deux types de cellules pancréatiques : clonales et primaires. Lors des travaux des biologistes, il s'est avéré que les cellules clonales n'avaient plus d'activité électrique pour des raisons encore inconnues. Par conséquent, nous avons donc consacré cette partie aux résultats obtenus avec des cellules primaires qui sont beaucoup plus représentatives des cellules au sein d'un pancréas. Parmi les six manipulations de 5 heures chacune effectuées avec NeuroBetaMed_XL, nous avons sélectionné une portion de 10 minutes d'enregistrement où le signal biologique présente différentes particularités qui nous intéressent (haut $SNR > 7$ et bas $SNR < 5$). Rappelons que sur toute la partie d'enregistrement le circuit est entièrement

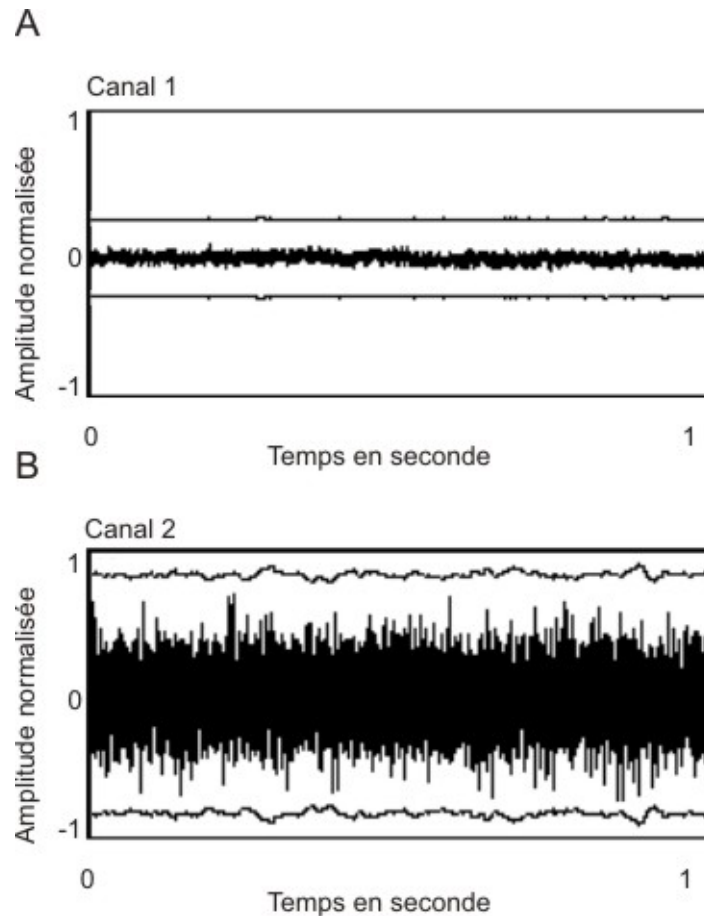


Figure IV.13 – Seuil adaptatif : A) signal provenant d’un canal d’enregistrement de cellules pancréatiques primaires avec un niveau de bruit faible et son seuil, B) signal provenant d’un canal d’enregistrement de cellules pancréatiques primaires avec un niveau de bruit plus important et son seuil

autonome sans aucune intervention humaine en cours d’enregistrement.

Le premier aspect sur lequel nous avons voulu mettre l’accent dans cette partie est le seuil adaptatif et son calcul spécifique à chacun des 60 canaux. La figure IV.13.A présente un canal d’enregistrement comportant un niveau de bruit faible avec le seuil calculé par le circuit, et la figure IV.13.B présente un autre canal avec un niveau de bruit plus élevé. Dans les deux cas, le seuil est calculé à partir du premier niveau de détail (d^1) lui même calculé à partir du signal brut. On remarque une adaptation du seuil en fonction du niveau de bruit. Par conséquent, on peut en déduire que le calcul du seuil se déroule correctement et est spécifique à chaque canal.

Le deuxième point consiste à vérifier la détection par l’intermédiaire de notre circuit en milieu peu bruité. La figure IV.14 présente les 60 canaux correspondant au signal brut biologique

Chapitre IV. Expériences et résultats

sur une seconde, la figure IV.15 présente le calcul du sixième niveau de détail par l'intermédiaire de la SWT (d6) ainsi que la détection effectuée par NeuroBetaMed_XL.

En cas de problème d'acquisition sur un canal (dépassement de la capacité des ADCs ou mauvais fonctionnement de l'électrode), le calcul en ondelette fournit un résultat faux engendrant des faux positifs (émoticône avec un pouce baissé). Nous avons choisi d'afficher ces résultats, même erronés, afin de pouvoir caractériser notre circuit. Bien entendu dans la version finale, lorsque qu'il y aura un problème d'acquisition le calcul ne sera pas effectué et un message avertira l'utilisateur. Les électrodes comportant un émoticône avec un pouce levé présentent des PAs qui sont détectés par notre circuit. Par conséquent, lorsque l'acquisition est bien effectuée, le calcul en ondelette ainsi que la détection des PAs se passent correctement.

Maintenant, voyons un exemple où l'amplitude des PAs est plus faible. Nous sommes à la 220^{ème} seconde de notre enregistrement, et l'activité et les cellules commencent à s'épuiser rendant les PAs difficiles à distinguer (figure IV.16.A). Afin de mieux détecter les PAs, nous appliquons un filtre passe-bas logiciel avec un seuil fixé manuellement depuis le début de l'expérience (figure IV.16.B). Enfin nous comparons ces résultats avec ceux fournis par notre circuit (figure IV.16.D).

Avec le filtrage logiciel, seul 3 PAs sur 8 ont été détectés alors que le seuil est réglé au plus près possible du niveau de bruit. Ce réglage a généré de nombreux faux positifs sur l'ensemble de l'expérience. Avec NeuroBetaMed_XL, 7 PAs sont détectés. Ce résultat aurait pu être meilleur si nous avions baissé légèrement le gain du seuil durant l'expérience sans engendrer de faux positifs. Au bilan même quand les PAs diminuent d'amplitude, ils sont toujours détectés par notre circuit alors qu'avec un filtrage conventionnel, cela n'a pas été possible.

Enfin, nous nous avons fait des études statistiques, dont nous montrons un exemple ici sur 5 minutes d'enregistrement (figure IV.17).

La différence du taux de détection des PAs entre le filtrage logiciel (80%) et celui de NeuroBetaMed_XL (96%) (avec un seuil qui peut être un peu plus affiné) est clairement en faveur de notre circuit. Ce type d'étude a été menée à différents taux de glucose (3 mmol et 15 mmol), comme nous l'avons fait pour NeuroBetaMed (étude des occurrences et de la fréquence des PAs). Les résultats sont quasi identiques (augmentation de la fréquence des PAs pour un taux de glucose élevé).

Le circuit a été adapté, par l'ajout d'une connexion spéciale, pour être utilisé sur des signaux neuronaux mesurés à partir des électrodes fabriquées par l'ESYCOM et provenant de la moelle épinière *ex vivo* de souris (projet HYRENE). Nous avons pu tester NeuroBetaMed_XL, sans tissu vivant en enregistrant des impulsions électriques envoyées par le biais d'une électrode de stimulation. La prochaine étape sera d'enregistrer les signaux vivants et sera réalisé d'ici fin

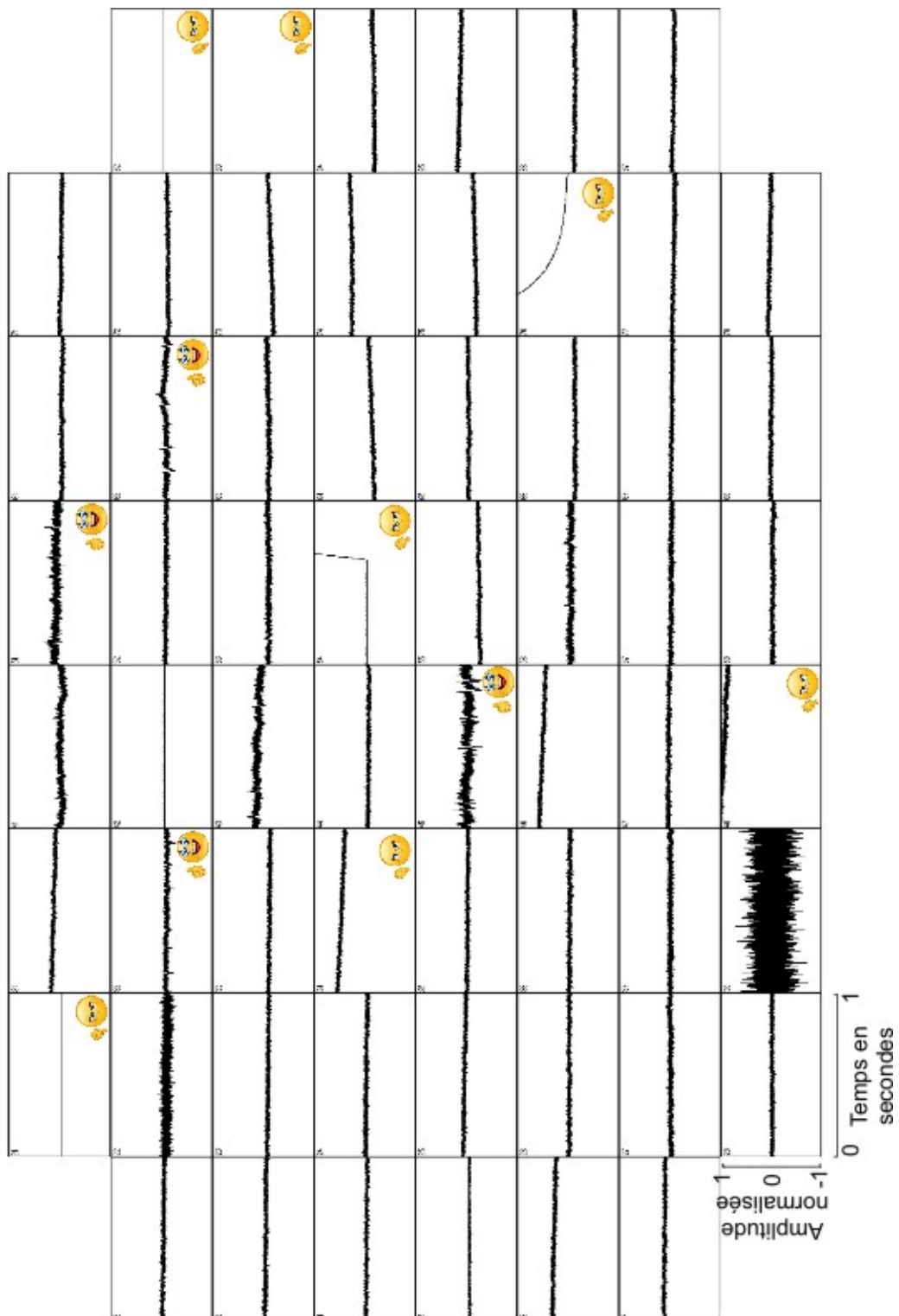


Figure IV.14 – 60 voies d’acquisition du signal d’entrée extrait des cartes SD. L’émoticône avec un pouce baissé correspond aux canaux ne fonctionnant pas et l’émoticône avec un pouce levé correspond aux canaux avec des PAs

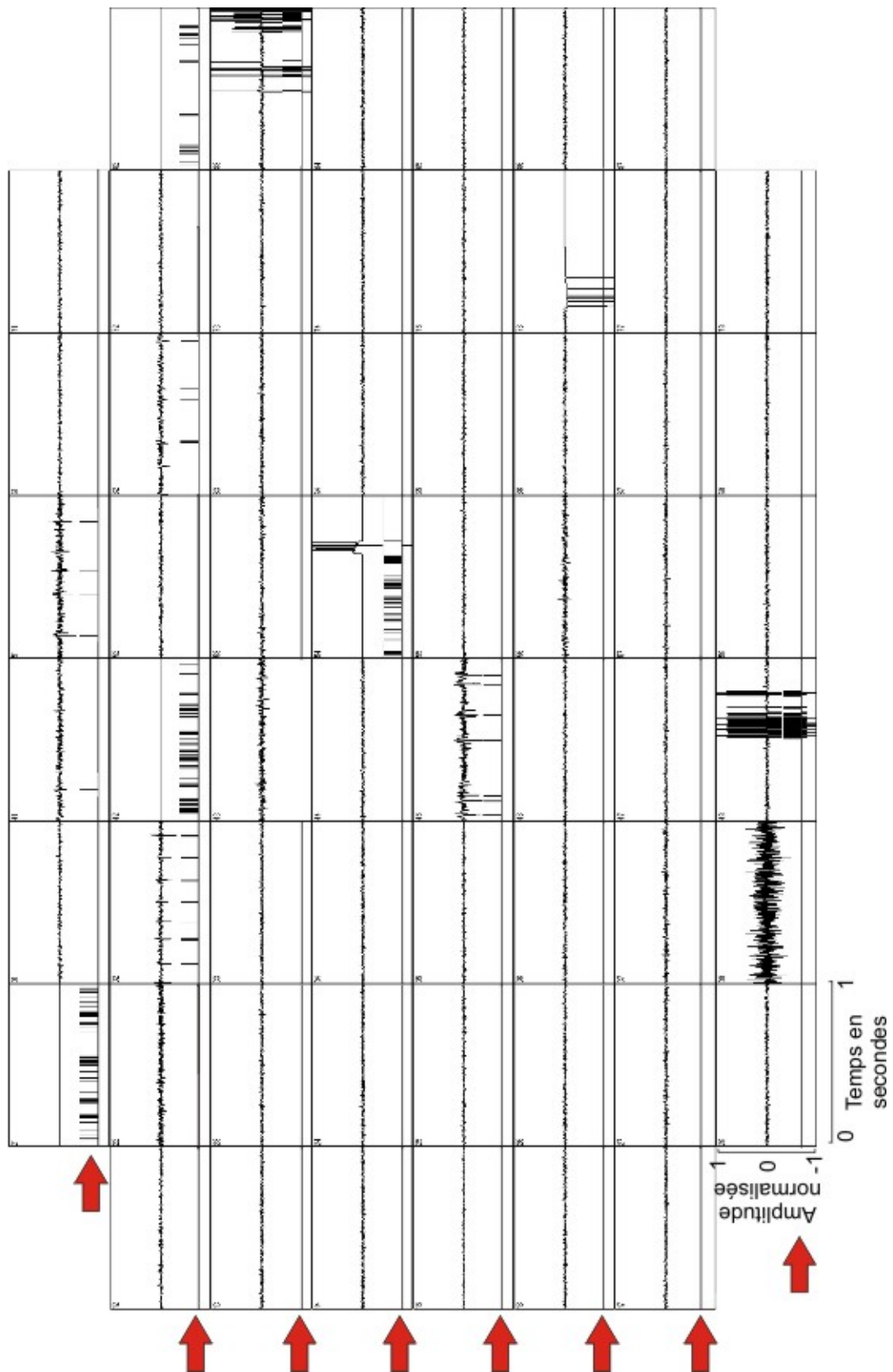


Figure IV.15 – 60 voies du calcul en SWT (niveau d6). Ces données ont été stockées sur les cartes SD du système. Les flèches rouges correspondent à la détection effectuée par NeuroBetaMed_XL.

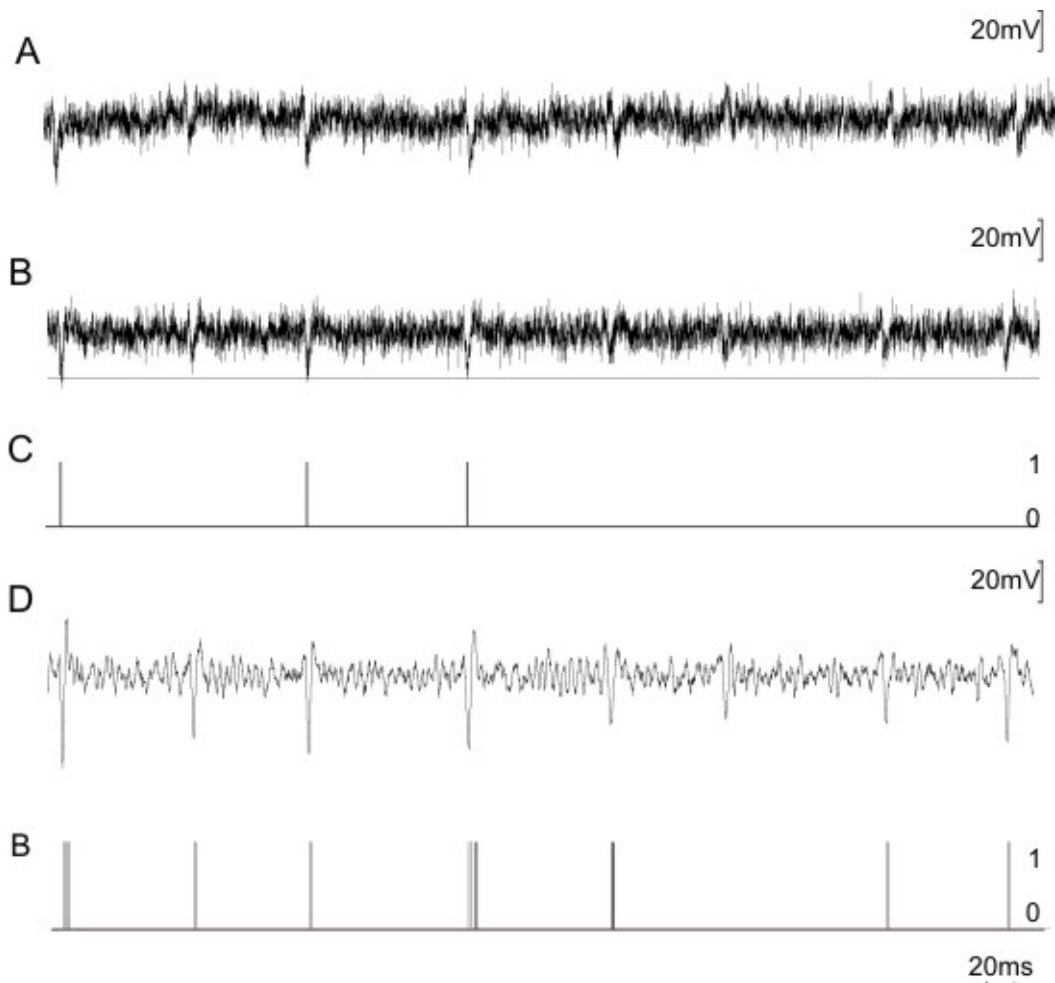


Figure IV.16 – Résultats sur un canal avec un SNR faible ($SNR < 5$) . A) Signal biologique brut provenant de cellules pancréatiques primaires, B) Signal biologique filtré, C) détection à partir du signal filtré, D) Sixième niveau de détail (d6) et E) Détection en sortie de NeuroBetaMed_XL

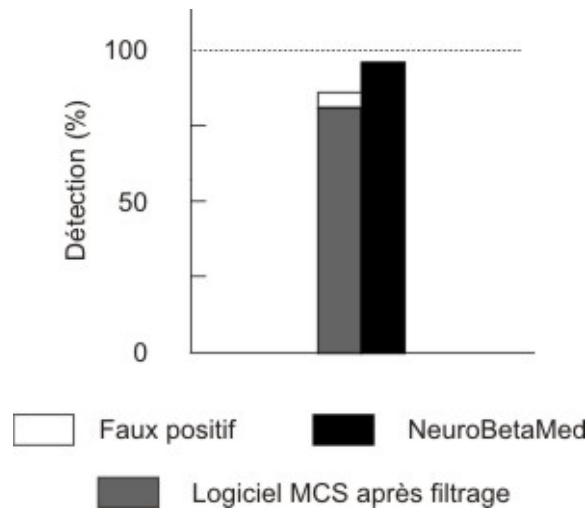


Figure IV.17 – Détection on-line de PAs par l’intermédiaire de NeuroBetaMed_XL (96 % de détection et 0% de faux positifs) et du logiciel MCS (80 % de détection et 5% de faux positifs) sur des signaux pancréatiques enregistrés à partir d’un MEA et sur une période de 5 minutes

2012.

3.3 Discussion et perspectives

NeuroBetaMed_XL est opérationnel et suite aux nombreux tests menés, nous avons pu valider son comportement. La seule précaution à prendre afin d’utiliser le circuit dans des conditions optimales est de choisir l’amplification du signal d’entrée avec soin afin de ne pas dépasser la capacité des ADCs. De plus un signal étant à la limite des ADCs peut engendrer des dépassements de capacité de calcul. Nous choisissons de nous limiter aux trois quart de la dynamique des ADCs afin de s’assurer du bon déroulement des calculs. L’interface utilisateur nous a aidés pour la vérification de nos choix de conception et nous a fourni les figures présentées précédemment.

L’idée originelle de notre projet était de développer une plateforme intégrant seulement l’algorithme en ondelette et le seuillage adaptatif. Mais nous avons poussé notre raisonnement en imaginant un circuit capable de recevoir des IPs afin d’étudier des signaux biologiques. En d’autres termes, le concepteur d’IP aura des données codées sur 16 bits pour appliquer le traitement qu’il désire. Ce travail est en cours de réalisation. Ensuite l’affichage des données sur écran VGA va être amélioré permettant à l’utilisateur de visualiser non seulement les détections en temps réel mais aussi les données brutes ainsi que les données traitées.

Conclusion générale

Bilan des travaux

Cette partie est l'occasion de faire un bilan des travaux effectués. L'idée de développer des circuits de détection des PAs découle du fait que cette information est primordiale pour coder l'information biologique. Nous avons donc pour objectif de développer les concepts abordés lors de travaux antérieurs de l'équipe [Bontorin, 2010], mais aussi d'en proposer des nouveaux. Dans ce contexte, les réalisations de l'auteur sont :

- l'établissement d'un environnement logiciel sous MATLAB afin de tester différents systèmes de détection de PA ;
- une comparaison des différentes méthodes de détection de PAs avec différents signaux biologiques ;
- l'implémentation numérique sur FPGA des fonctions d'acquisition de signaux biologiques, de calcul de la SWT et de seuillage adaptatif ;
- la réalisation matérielle de différents systèmes de détection (NeuroBetaMed_Rs232, NeuroBetaMed, NeuroBetaMed_XL) ;
- la réalisation de l'interface nécessaire à l'utilisation des circuits (gestion d'un écran VGA *etc.*) ;
- les tests et mesures sur les circuits lors d'expériences sur tissu vivant avec la participation systématique des biologistes ;
- la dissémination de ces travaux de recherche à travers des publications (spécialisées et grand public).

Les travaux ont donc été réalisés en trois temps. Tout d'abord la simulation logicielle nécessaire à la recherche d'une méthode efficace de détection de PAs et à la justification statistique de nos choix de conception. Dans un second temps, la structure retenue de façon logicielle a été implémentée matériellement avant d'être testée et caractérisée avec des signaux artificiels (*off-line*). Enfin, la dernière partie a consisté à mener des tests sur cellules vivantes en com-

Chapitre IV. Conclusion générale

parant en permanence les résultats obtenus logiciellement et ceux obtenus avec nos circuits. L'ensemble de ces protocoles ont été définis en interaction avec nos collaborateurs biologistes.

D'un point de vue fonctionnel, la SWT suivie d'un seuillage adaptatif a été reconnue dans ce manuscrit comme une solution intéressante pour la détection des PAs en milieu très bruité. Cette méthode a été implémentée, non pas sur ASIC full-custom mais sur FPGA pour des raisons d'utilisation matérielle et de reconfigurabilité. La principale caractéristique des systèmes réalisés est leur autonomie. Le traitement du signal se fait en temps réel pour une consommation en ressource et une surface silicium réduites au maximum. L'évolution des structures nous a permis de proposer aux biologistes un système détectant des PAs de façon automatique. Nos systèmes s'inscrivant dans deux projets de recherche (HYRENE et HYBIOPACS) traitant de signaux différents, leur reconfigurabilité permet de paramétrer la détection à la volée afin de pouvoir procéder à une analyse différente. L'aspect fonctionnel a été important dans la conception des circuits en vue de leur utilisation simple par les biologistes, d'où un souci particulier pour l'interface utilisateur. Le stockage des données sur cartes mémoires SD ainsi que la visualisation des différents paramètres de détection représentent une interface pratique et performante en vue de l'étude des données *on-line* et *off-line*.

Enfin, en ce qui concerne les résultats expérimentaux, les données statistiques ont toujours été calculées avec la participation de l'auteur et d'un biologiste afin de s'assurer que les PAs détectés par les circuits n'étaient pas des faux. En ce qui concerne le traitement des animaux pour nos expériences, il a été conforme aux différentes chartes exigées en laboratoire.

Perspectives

A travers nos différents circuits et collaborations, les perspectives de ces travaux se déclinent selon deux aspects :

D'un point de vue électronique, les systèmes qui viennent d'être présentés ouvrent la voie à l'apparition de nouvelles fonctionnalités :

- Grâce au calcul numérique et en l'occurrence aux FPGAs, d'autres fonctions peuvent être implémentées sur le même support. Les prochains systèmes doivent être vus comme des plateformes de développement d'IPs où le système d'acquisition extrait et formate les données brutes. Une fonction de traitement (une IP) n'a plus qu'à être implémentée en VHDL afin de proposer un nouveau type de traitement embarqué. Par exemple, de nouveaux filtrages ou autres méthodes de détection de PAs peuvent être appliqués à un signal biologique.
- Un choix de conception s'est offert à nous en ce qui concerne le support d'implémenta-

tion : analogique ou numérique. Il semble clair que pour implémenter une fonction aussi complexe et reconfigurable qu'est la transformée en ondelettes paramétrables, l'implémentation analogique est problématique. Mais pour des fonctions moins lourdes tel que le seuillage adaptatif seul, l'analogique a son rôle à jouer et peut présenter plus d'avantages que le numérique.

- En ce qui concerne l'interface utilisateur, son amélioration est déjà commencée au travers d'un stage d'élève-ingénieur. Son but est de proposer à l'utilisateur différentes options de visualisation dont l'observation en temps réel les données brutes ou à la sortie du filtrage.
- L'avancée la plus importante à venir est la maîtrise de la chaîne complète d'acquisition. Pour l'instant l'acquisition du signal par MEA ainsi que la pré-amplification sont effectués par des circuits commerciaux.
- Nos travaux restent encore assez éloignés de la finalité de "l'implant" que nous avons évoqué en introduction. Même si de nombreuses avancées ont été effectuées, les prochaines générations de circuits, comme c'est le cas avec la nouvelle version de NeuroBetaMed_XL, devront être encore optimiser en termes d'occupation et de consommation.

D'un point de vue exploitation pour la biologie, de nouvelles pistes s'offrent à nous et à nos collaborateurs :

En ce qui concerne le projet HYRENE sur la moelle épinière de souris, le système de détection de PAs est prêt à être utilisé. Le protocole de communication entre notre système et le réseau de neurones artificiels doit être encore défini afin de pouvoir contrôler le stimulateur.

Sur le projet du diabète, qui est plus mature, les perspectives sont nombreuses :

- Comme les neurones, les cellules pancréatiques peuvent être représentées par des modèles mathématiques. Pour l'instant, ces modèles ne mettent pas en corrélation directement l'activité électrique d'une cellule pancréatique mesurée sur MEA et le besoin en insuline. Par conséquent un travail important doit être fait dans ce domaine afin de caractériser précisément cette dépendance. Notre équipe a donc commencé une collaboration avec l'université de Virginia pour avancer sur ces modèles mathématiques.
- Durant cette dernière année les biologistes, en changeant leurs paramètres de filtrage ont découvert un nouveau type de signal autre que les PAs pouvant indiquer le besoin en insuline. Selon l'activité des cellules, des ondes lentes (0,6 Hz) apparaissent, qui pourraient fournir aussi une information sur l'activité des cellules. Par conséquent une étude sur ce type de signal doit être effectuée et de nouvelles méthodes de filtrage sont implémentées actuellement par un post-doctorant dans notre équipe.
- Au delà de la recherche fondamentale et appliquée, Elibio s'engage sur la recherche finalisée avec son projet *Dia β chip* destiné à fournir un système Lab-on-Chip permettant

Chapitre IV. Conclusion générale

entre autres de tester la viabilité des cellules pancréatiques avant une transplantation sur patient.

La multitude de perspectives existantes prouve à quel point la recherche dans ce domaine est encore peu avancée. De nombreuses pistes restent encore à exploiter et l'équipe Elibio par l'intermédiaire de ses chercheurs, ses doctorants, ses ingénieurs et ses stagiaires, reste concentrée sur les futures tâches à accomplir. L'interaction entre la biologie et l'électronique reste un domaine fascinant comportant certes des réponses, mais encore beaucoup d'énigmes à résoudre et de travaux à réaliser, auquel l'auteur espère pouvoir contribuer.

Annexe 1

1 Coefficients des filtres représentant les ondelettes mères

Tableau A1.1 – Coefficients des filtres représentant les ondelettes mères

Ondelette	L : Nombre de coefficient (ordre du filtre)	Coefficients du filtre passe-haut (G)	Coefficients du filtre passe-bas (H)
haar	2	g[0] = -0.7071067812 g[1] = 0.7071067812	h[0] = 0.7071067812 h[1] = 0.7071067812
Symlet2	4	g[0] = -0.4829629131 g[1] = 0.8365163037 g[2] = -0.2241438680 g[3] = -0.1294095226	h[0] = -0.1294095226 h[1] = 0.2241438680 h[2] = 0.8365163037 h[3] = 0.4829629131
Daubechies4	8	g[0] = -0.2303778133 g[1] = 0.7148465706 g[2] = -0.6308807679 g[3] = -0.0279837694 g[4] = 0.1870348117 g[5] = 0.0308413818 g[6] = -0.0328830117 g[7] = -0.0105974018	h[0] = -0.0105974018 h[1] = 0.0328830117 h[2] = 0.0308413818 h[3] = -0.1870348117 h[4] = -0.0279837694 h[5] = 0.6308807679 h[6] = 0.7148465706 h[7] = 0.2303778133

2 Coefficients du filtre de l'ondelette haar pour la SWT

Tableau A1.2 – Coefficients du filtre de l'ondelette haar pour la SWT

	Niveau 1 (j=1)	Niveau 2 (j=2)	Niveau 3 (j=3)
			$g^3[0] = -0.7071067812$
			$g^3[1] = 0$
Filtre		$g^2[0] = -0.7071067812$	$g^3[2] = 0$
passe-	$g^1[0] = -0.7071067812$	$g^2[1] = 0$	$g^3[3] = 0$
haut	$g^1[1] = 0.7071067812$	$g^2[2] = 0.7071067812$	$g^3[4] = 0.7071067812$
(G^j)		$g^2[3] = 0$	$g^3[5] = 0$
			$g^3[6] = 0$
			$g^3[7] = 0$
			$h^3[0] = 0.7071067812$
			$h^3[1] = 0$
Filtre		$h^2[0] = 0.7071067812$	$h^3[2] = 0$
passe-	$h^1[0] = 0.7071067812$	$h^2[1] = 0$	$h^3[3] = 0$
bas	$h^1[1] = 0.7071067812$	$h^2[2] = 0.7071067812$	$h^3[4] = 0.7071067812$
(H^j)		$h^2[3] = 0$	$h^3[5] = 0$
			$h^3[6] = 0$
			$h^3[7] = 0$

Références bibliographiques de l'auteur

Gosselin, B., Hosseini-Khayat, S., Quotb, A., and Sawan, M. (2011). *Hardware implementation of wavelet transforms for real-time de-tecton and compression of biopotentials in neural implants*. *Current Devel-opment in Theory and Applications of Wavelets*, 5(1) :1-34.

Quotb, A., Bornat, Y., and Renaud, S. (2011). *Wavelet transform for real-time detection of action potentials in neural signals*. *Frontiers in Neuroengineering*, 4.

Raoux, M., Bornat, Y., Quotb, A., Catargi, B., Renaud, S., and Lang, J. (2012). *Non-invasive long-term and real-time analysis of endocrine cells on micro-electrode arrays*. *J Physiol*, 590 (Pt 5) :1085-91.

Quotb, A., Bornat, Y., Raoux, M., Lang, J., and Renaud, S. (2012). *NeuroBetaMed : A re-configurable wavelet-based event detection circuit for in vitro biological signals*. 2012 IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS).

Quotb, A., Floderer J., Bollengier T., Bornat and Renaud, S *Real-time Wavelet Spike Detection with In-vitro Biological Signals : the NeuroBetaMed Setup*, 2012 IEEE International Symposium on Biomedical Circuits and Systems Conference (BIOCAS).

Références bibliographiques de l'auteur

Références bibliographiques

- Addison, P. (2002). *The illustrated wavelet transform handbook : introductory theory and applications in science, engineering, medicine and finance*. Bristol and Philadelphia : Institute of Physics Publishing. [30](#), [46](#)
- Ahuja, A. K., Dorn, J. D., Caspi, A., McMahon, M. J., Dagnelie, G., Dacruz, L., Stanga, P., Humayun, M. S., and Greenberg, R. J. (2010). Blind subjects implanted with the argus ii retinal prosthesis are able to improve performance in a spatial-motor task. *Br J Ophthalmol*, 95(4) :539–43. Argus II Study Group. [17](#)
- Akansu, A. N. (1994). Wavelets and filter banks. a signal processing perspective. *Circuits and Devices Magazine, IEEE*, 10(6) :14–18. 8755-3996. [39](#)
- Al ani, T. (1998). Introduction aux ondelettes (wavelets). Département Informatique ESIEE-Paris. [6](#)
- Arnaud, G. (2011). Etude et conception d’un asic mixte pour la détection adaptative d’activité de cellules biologiques. [27](#)
- Barati, S. and Sodagar, A. M. (2011). Discrete-time automatic spike detection circuit for neural recording implants. *Electronics Letters*, 47(5) :306–307. 0013-5194. [25](#)
- Beche, J. F., Bonnet, S., Levi, T., Escola, R., Noca, A., Charvet, G., and Guillemaud, R. (2009). Real-time adaptive discrimination threshold estimation for embedded neural signals detection. In *Neural Engineering, 2009. NER '09. 4th International IEEE/EMBS Conference on*, pages 597–600. [26](#)
- Benazzouz, A. (2004). High frequency stimulation of the subthalamic nucleus in parkinson’s disease. *Med Sci (Paris)*, 20(4) :397–8. Stimulation a haute frequence du noyau sous-thalamique dans la maladie de Parkinson. [14](#), [15](#)
- Bertram, R., Satin, L. S., Pedersen, M. G., Luciani, D. S., and Sherman, A. (2007). Interaction of glycolysis and mitochondrial respiration in metabolic oscillations of pancreatic islets. *Biophys J*, 92(5) :1544–55. [8](#)

Références bibliographiques

- Best, L., Brown, P. D., Sener, A., and Malaisse, W. J. (2010). Electrical activity in pancreatic islet cells : The vrac hypothesis. *Islets*, 2(2) :59–64. [7](#)
- Bontorin, G. (2010). Intelligent multielectrode arrays : improving spatiotemporal performances in hybrid (living-artificial), real-time, closed-loop systems. *Électronique et microtechnologie*. [107](#)
- Bootin, M. L. (2006). Deep brain stimulation : overview and update. *J Clin Monit Comput*, 20(5) :341–6. [14](#), [15](#)
- Boraud, T., Brown, P., Joshua, A., Goldberg, J. A., Graybiel, A. M., and J., M. P. (2005). *The Basal Ganglia VIII, chapitre OSCILLATIONS IN THE BASAL GANGLIA : The good, the bad, and the unexpected*. Springer Science and Business Media, New York. [48](#)
- Bornat, Y. (2006). Réseaux de neurones sur silicium : une approche mixte, analogique/numérique, pour l'étude des phénomènes d'adaptation, d'apprentissage et de plasticité. *Université de Bordeaux1*. [5](#)
- Chen, Z. H., Li, T., Chen, Z. B., Luo, B., and Sun, R. P. (2009). Prevention of beta cell dysfunction and apoptosis by adenoviral gene transfer of rat insulin-like growth factor 1. *Chin Med J (Engl)*, 122(18) :2159–64. [8](#)
- Chung-Ching, P., Sabharwal, P., and Bashirullah, R. (2009). An adaptive neural spike detector with threshold-lock loop. In *Circuits and Systems, 2009. ISCAS 2009. IEEE International Symposium on*, pages 2133–2136. [27](#)
- Coffey, R. J. (2009). Deep brain stimulation devices : a brief technical history and review. *Artif Organs*, 33(3) :208–20. [14](#), [15](#)
- Coifman, R. R., Meyer, Y., and Wickerhauser, M. V. (1992). *Wavelet analysis and signal processing*. Wavelets and their applications. B. R. , Ed. Nerw york : Jones and Barlett. [40](#)
- Daubechies, I. (1992). *Ten lectures on wavelets*. Philadelphia : Society for Industrial and Applied Mathematics. 130655. [34](#)
- De Marinis, Y. Z., Salehi, A., Ward, C. E., Zhang, Q., Abdulkader, F., Bengtsson, M., Braha, O., Braun, M., Ramracheya, R., Amisten, S., Habib, A. M., Moritoh, Y., Zhang, E., Reimann, F., Rosengren, A. H., Shibasaki, T., Gribble, F., Renstram, E., Seino, S., Eliasson, L., and Rorsman, P. (2010). Glp-1 inhibits and adrenaline stimulates glucagon release by differential modulation of n- and l-type ca²⁺ channel-dependent exocytosis. *Cell Metabolism*, 11(6) :543–553. 1550-4131 doi : 10.1016/j.cmet.2010.04.007. [7](#)
- Dickhaus, H., Khadra, L., and Brachmann, J. (1994). Time-frequency analysis of ventricular late potentials. *Methods Inf Med*, 33(2) :187–95. [29](#)
- Donghwi, K., Stanacevic, M., Kamoua, R., and Mainen, Z. (2008). A low-power low-data-rate neural recording system with adaptive spike detection. In *Circuits and Systems, 2008. MWSCAS 2008. 51st Midwest Symposium on*, pages 822–825. [27](#)

- Donoho, D. L. (1995). De-noising by soft-thresholding. *Information Theory, IEEE Transactions on*, 41(3) :613–627. 0018-9448. [24](#)
- Drolet, J., Semmaoui, H., and Sawan, M. (2011). Low-power energy-based cmos digital detector for neural recording arrays. In *Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS), 2011 IEEE*, pages 13–16. [29](#)
- Dumortier, C. (2005). Transformée en ondelettes discrète pour un dispositif multicanal implantable d'enregistrement de signaux neuronaux. page 135. [41](#)
- Edwards, R. T. and Cauwenberghs, G. (1995). Analog vlsi processor implementing the continuous wavelet transform. In *NIPS'95*, pages 692–698. [39](#)
- Fei, Z., Aghagolzadeh, M., and Oweiss, K. (2011). A low-power implantable neuroprocessor on nano-fpga for brain machine interface applications. In *Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP), 2011 IEEE International Conference on*, pages 1593–1596. [30](#)
- Fieres, J., Grubl, A., Philipp, S., Meier, K., Schemmel, J., and Schurmann, F. (2004). A platform for parallel operation of vlsi neural network. *Brain inspired cognitive systems*. [6](#)
- Finn, W. and Lopresti, P. (2003). *Handbook of neuroprosthetic methods*. 1 st ed. Boca Raton : CRC Press. [6](#)
- Flandrin, P. (1998). *Temps-fréquence*. 2 éd. Paris : Hermès. [33](#)
- Folkers, A., Mosch, F., Malina, T., and Hofmann, U. G. (2003). Realtime bioelectrical data and processing from 128 channels utilizing the wavelet-transformation. *Neurocomputing*, 52-54 :247–254. [30](#)
- Fridlyand, L. E., Jacobson, D. A., Kuznetsov, A., and Philipson, L. H. (2009). A model of action potentials and fast ca²⁺ dynamics in pancreatic beta-cells. *Biophysical Journal*, 96(8) :3126–3139. 0006-3495 doi : 10.1016/j.bpj.2009.01.029. [8](#)
- Gabor, D. (1946). Theory of communication. *Journal of Institute of Electrical Engineers*, 93(26) :429–457. [33](#)
- Gerstner, W. and Kistler, W. M. (2002). *Spiking neuron models*. Cambridge Univ. Press. [6](#)
- Gosselin, B., Hosseini-Khayat, S., Quotb, A., and Sawan, M. (2011). Hardware implementation of wavelet transforms for real-time detection and compression of biopotentials in neural implants. *Current Development in Theory and Applications of Wavelets*, 5(1) :1–34. [30](#)
- Gosselin, B. and Sawan, M. (2009). An ultra low-power cmos automatic action potential detector. *Neural Systems and Rehabilitation Engineering, IEEE Transactions on*, 17(4) :346–353. 1534-4320. [29](#)

Références bibliographiques

- Gromada, J., Brock, B., Schmitz, O., and Rorsman, P. (2004). Glucagon-like peptide-1 : regulation of insulin secretion and therapeutic potential. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 95(6) :252–62. [7](#), [8](#)
- Grossmann, A. and Morlet, J. (1984). Decomposition of hardy functions into square integrable wavelets of constant shape. *SIAM Journal on Mathematical Analysis*, 15(4) :723–736. [33](#)
- Gullo, F., Maffezzoli, A., Dossi, E., and Wanke, E. (2009). Short-latency cross- and autocorrelation identify clusters of interacting cortical neurons recorded from multi-electrode array. *J Neurosci Methods*, 181(2) :186–98. [17](#)
- Haddad, S. A. P., Verwaal, N., Houben, R., and Serdijn, W. A. (2004). Optimized dynamic translinear implementation of the gaussian wavelet transform. In *Circuits and Systems, 2004. ISCAS '04. Proceedings of the 2004 International Symposium on*, volume 1, pages I–145–I–148 Vol.1. [39](#)
- HajjHassan, M., Chodavarapu, V., and Musallam, S. (2008). Neuromems : Neural probe microtechnologies. *Sensors*, 8(10) :6704–6726. [15](#)
- Harrison, R. R. (2003). A low-power integrated circuit for adaptive detection of action potentials in noisy signals. In *Engineering in Medicine and Biology Society, 2003. Proceedings of the 25th Annual International Conference of the IEEE*, volume 4, pages 3325–3328 Vol.4. [21](#), [25](#), [27](#), [43](#)
- Harrison, R. R. (2011). Integrated biopotential amplifiers : architecture, performance and testing. *Tutorial in Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS), 2011 IEEE*. [15](#), [16](#)
- Horiuchi, T., Swindell, T., Sander, D., and Abshier, P. (2004). A low-power cmos neural amplifier with amplitude measurements for spike sorting. In *Circuits and Systems, 2004. ISCAS '04. Proceedings of the 2004 International Symposium on*, volume 4, pages IV–29–32 Vol.4. [24](#)
- Hulata, E., Segev, R., Shapira, Y., Benveniste, M., and Ben-Jacob, E. (2000). Detection and sorting of neural spikes using wavelet packets. *Physical Review Letters*, 85(21) :4637. Copyright (C) 2010 The American Physical Society Please report any problems to prola@aps.org PRL. [30](#)
- Imfeld, K., Maccione, A., Gandolfo, M., Martinoia, S., Farine, P. A., Koudelka-Hep, M., and Berdondini, L. (2009). Real-time signal processing for high-density microelectrode array systems. *International Journal of Adaptive Control and Signal Processing*, 23(11) :983–998. 1099-1115. [30](#)
- Karel, J. M. H., Peeters, R. L. M., Westra, R. L., Moermans, K. M. S., Haddad, S. A. P., and Serdijn, W. A. (2005). Optimal discrete wavelet design for cardiac signal processing. In *Proceedings of the 27th Annual International Conference on Engineering in Medicine and Biology Society of the IEEE-EMBS, Shanghai*, pages 2769–2772. [30](#)

- Kato, Y., Nishino, M., Saito, I., Suzuki, T., and Mabuchi, K. (2006). Flexible intracortical neural probe with biodegradable polymer for delivering bioactive components. In *Microtechnologies in Medicine and Biology, 2006 International Conference on*, pages 143–146. 15
- Khadra, L., Dickhaus, H., and Lipp, A. (1993). Representations of ecg-late potentials in the time frequency plane. *J Med Eng Technol*, 17(6) :228–31. 29
- Kim, K. H. and Kim, S. J. (2003). A wavelet-based method for action potentiel detection from extracellular neural signal recording with low signal-to-noise ratio. *IEEE Transaction on Biomedical Engineering*, 3 :277–283. 30
- Kolbl, F., Zbrzeski, A., Syed, E., Renaud, S., and Lewis, N. (2010). In vivo electrical characterization of deep brain electrode and impact on bio-amplifier design. In *Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS), 2010 IEEE*, pages 210–213. 14
- Lee, J. and Kipke, D. (2006). Neural signal processing using discrete wavelet transform for neural interfaces. In *Proceedings on the International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology, Okinawa*, pages 169–172. 30
- Lewicki, M. (1994). Bayesian modeling and classification of neural signals. *Neural Computation*, 6 :1005–1030. 30
- Maccione, A., Gandolfo, M., Massobrio, P., Novellino, A., Martinoia, S., and Chiappalone, M. (2009). A novel algorithm for precise identification of spikes in extracellularly recorded neuronal signals. *J Neurosci Methods*, 177(1) :241–9. 17
- Mallat, S. G. (1999). *A wavelet tour of signal processing*. Academic Press, New York. 34, 40
- Manjunath, A. and Ravikumar, H. M. (2010). Comparison of discrete wavelet transform (dwt), lifting wavelet transform (lwt) stationary wavelet transform (swt) and s-transform in power quality analysis. *European Journal of Scientific Research*, 39(4) :569–576. 30
- Marquie, G., Duhault, J., Espinal, J., Petkov, P., Jablenska, R., Khallayoun, S., and Bennani, N. (1997). S 15261, a novel agent for the treatment of insulin resistance. studies on psammomys obeseus. effect on pancreatic islets of insulin resistant animals. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 43(2) :243–51. 8
- Meyer, Y. and Ryan, R. (1993). *Wavelets : Algorithms and Applications*. Society for Industrial and Applied Mathematics, Philadelphia. 34, 40
- Moo Sung, C., Wentai, L., and Sivaprakasam, M. (2008). Design optimization for integrated neural recording systems. *Solid-State Circuits, IEEE Journal of*, 43(9) :1931–1939. 0018-9200. 29
- Mtetwa, N. and Smith, L. S. (2006). Smoothing and thresholding in neuronal spike detection. *Neurocomputing*, 69(10-12) :1366–1370. 0925-2312 doi : 10.1016/j.neucom.2005.12.108. 24

Références bibliographiques

- Mukhopadhyay, S. and Ray, G. C. (1998). A new interpretation of nonlinear energy operator and its efficacy in spike detection. *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, 45(2) :180–187. 0018-9294. [29](#)
- Nakatani, H., Watanabe, T., and Hoshimiya, H. (2001). Detection of nerve action potentials under low signal-to-noise ratio condition. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 48 :845–849. [30](#)
- Nam, Y. and Wheeler, B. C. (2011). In vitro microelectrode array technology and neural recordings. *Crit Rev Biomed Eng*, 39(1) :45–61. [17](#)
- Nenadic, Z. and Burdick, J. W. (2005). Spike detection using the continuous wavelet transform. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 52(1) :74–87. 0018-9294. [48](#)
- Obeid, I. (2007). Comparison of spike detectors based on simultaneous intracellular and extracellular recordings. In *Neural Engineering, 2007. CNE '07. 3rd International IEEE/EMBS Conference on*, pages 410–413. [29](#)
- Pedersen, M. G. (2009). Contributions of mathematical modeling of beta cells to the understanding of beta-cell oscillations and insulin secretion. *J Diabetes Sci Technol*, 3(1) :12–20. [8](#)
- Pedersen, M. G. (2010). A biophysical model of electrical activity in human beta-cells. *Biophys J*, 99(10) :3200–7. [8](#)
- Perelman, Y. and Ginosar, R. (2007). An integrated system for multichannel neuronal recording with spike/lfp separation, integrated a/d conversion and threshold detection. *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, 54(1) :130–137. 0018-9294. [6](#)
- Quiroga, R. Q., Nadasdy, Z., and Ben-Shaul, Y. (2004). Unsupervised spike detection and sorting with wavelets and superparamagnetic clustering. *Neural Comput.*, 16(8) :1661–1687. 1017313. [48](#)
- Quotb, A., Bornat, Y., and Renaud, S. (2011). Wavelet transform for real-time detection of action potentials in neural signals. *Frontiers in Neuroengineering*, 4. [27](#), [30](#)
- Ranade, G. V., Ganguly, K., and Carmena, J. (2009). Lfp beta power predicts cursor stationarity in bmi task. In *Neural Engineering, 2009. NER '09. 4th International IEEE/EMBS Conference on*, pages 482–485. [6](#)
- Rangayyan, R. (2002). *Biomedical Signal Analysis : a case-study approach*. Wiley-IEEE Press, Hoboken. [6](#)
- Raoux, M., Bornat, Y., Quotb, A., Catargi, B., Renaud, S., and Lang, J. (2012). Non-invasive long-term and real-time analysis of endocrine cells on micro-electrode arrays. *J Physiol*, 590(Pt 5) :1085–91. [52](#), [53](#), [95](#)

- Salmanpour, A., Brown, L. J., and Shoemaker, J. K. (2008). Performance analysis of stationary and discrete wavelet transform for action potential detection from sympathetic nerve recordings in humans. In *Proceedings of the 30th Annual International Conference on Engineering in Medicine and Biology Society of the IEEE, Vancouver*, pages 2932–2935, Vancouver. [30](#), [40](#)
- Samar, V. J., Bopardikar, A., Rao, R., and Swartz, K. (1999). Wavelet analysis of neuroelectric waveforms : a conceptual tutorial. *Brain Lang*, 66(1) :7–60. [34](#)
- Sarna, M. F., Gochin, P., Kaltenbach, J., Salganicoff, M., and Gerstein, G. L. (1988). Un-supervised waveform classification for multi-neuron recordings : a real-time, software-based system. ii. performance comparison to other sorters. *J Neurosci Methods*, 25(3) :189–96. [23](#)
- Shih-Chii, L. and Douglas, R. (2004). Temporal coding in a silicon network of integrate-and-fire neurons. *IEEE Transactions on Neural Networks*. [6](#)
- Shulyzki, R., Abdelhalim, K., Bagheri, A., Florez, C. M., Carlen, P. L., and Genov, R. (2011). 256-site active neural probe and 64-channel responsive cortical stimulator. In *Custom Integrated Circuits Conference (CICC), 2011 IEEE*, pages 1–4. [15](#)
- Simard, V. (2004). Transformée en ondelettes pour un système d’acquisition de signaux corticaux implantable. page 135. [39](#)
- Sohee, K., Tathireddy, P., Normann, R. A., and Solzbacher, F. (2007). Thermal impact of an active 3-d microelectrode array implanted in the brain. *Neural Systems and Rehabilitation Engineering, IEEE Transactions on*, 15(4) :493–501. 1534-4320. [15](#)
- Speier, S. and Rupnik, M. (2003). A novel approach to in situ characterization of pancreatic β -cells. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 446(5) :553–558. 0031-6768. [14](#)
- Strang, G. and Nguyen, T. (1996). *Wavelets and filter banks*. Wellesley, MA : Wellesley-Cambridge Press. [40](#)
- Swendels, W. (1997). The lifting scheme : a construction of second generation wavelets. *SIAM Journal on Mathematical Analysis*., 2 :511–546. [30](#)
- Tritsch, D., Chesnoy-Marchay, D., and Feltz, A. (1998). *Physiologie du neurone*. Doin initiatives santé edition. [4](#), [5](#)
- Unser, M. and Aldroubi, A. (1996). A review of wavelets in biomedical applications. *Proceedings of the IEEE*, 84(4) :626–638. 0018-9219. [29](#), [34](#)
- Watkins, P. T., Santhanam, G., Shenoy, K. V., and Harrison, R. R. (2004). Validation of adaptive threshold spike detector for neural recording. In *Engineering in Medicine and Biology Society, 2004. IEMBS '04. 26th Annual International Conference of the IEEE, San Francisco*, volume 2, pages 4079–4082. [27](#), [46](#)

Références bibliographiques

- Wickerhauser, M. V. (1994). *Adapted Wavelet Analysis from Theory to Software*. A K Peters/-CRC Press. 30
- Williams, R. W. and Herrup, K. (1988). The control of neuron number. *Annu Rev Neurosci*, 11 :423–53. 4
- Yuning, Y., Kamboh, A., and Andrew, J. M. (2010). Adaptive threshold spike detection using stationary wavelet transform for neural recording implants. *IEEE, Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS), Paphos .*, pages 9–12. 30