



Noninvasive Instrumentation for Respiratory Activity Recording in Freely Moving Rats Placed a Large Experimental Space

Instrumentation Non Invasive pour L'Enregistrement De L'Activité Respiratoire Chez le Rat Libre de Ses Mouvements dans un Grand Espace Expérimental

Dominique Ligot^{1*}, Christine Marguet¹, Bruno Favre¹, Belkacem Messaoudi², Damien Gervasoni², Philippe Litaudon²

¹ ARThémIs, IUT Lyon1, Université Lyon1, Université de Lyon, 17 rue de, Villeurbanne Cedex 69627, France

² Centre Recherche Neurosciences Lyon, Codage et mémoire olfactive, Inserm, U1028 - CNRS UMR5292- Université Lyon1- Université de Lyon, CH Le Vinatier Bâtiment 452 95 Bd Pinel, BRON Cedex 69675, France

Corresponding Author Email: dominique.ligot@univ-lyon1.fr

<https://doi.org/10.18280/i2m.190303>

Received: 23 November 2019

Accepted: 10 March 2020

Keywords:

instrumentation, rat, respiration monitoring, non-invasive sensor, EPIC sensor

Mots-clés :

instrumentation, rat, rythme respiratoire, capteur non-invasif, capteur EPIC

ABSTRACT:

The study of the link between respiration and brain rhythms is of increasing interest. To study, in rodents, the impact of this link on cognitive functions, the respiratory activity must be recorded in a freely moving animal. We have chosen to use an EPIC sensor that detects changes in the surrounding electrical potential, without disturbances, and therefore the movements of electrical charges induced by respiratory movements. After validating the use of this sensor on an anesthetized animal, we characterized its sensitivity through the use of a phantom allowing simulating respiratory movements at different frequencies. The last series of experiments carried out in an awake rat, demonstrates that this sensor makes it possible to remotely collect the respiratory activity both during the periods of slow breathing (quiet waking - sleep) and during sniffing activity (fast breathing) when the animal explores its environment.

RÉSUMÉ :

L'étude du lien entre la respiration et les rythmes cérébraux fait l'objet d'un intérêt croissant. Pour étudier, chez les rongeurs, l'impact de ce lien sur les fonctions cognitives, l'activité respiratoire doit être enregistrée chez un animal libre de ses mouvements. Nous avons choisi d'utiliser un capteur EPIC qui détecte les changements du potentiel électrique spatial environnant, sans perturbations, et donc les déplacements de charges électriques induits par les mouvements respiratoires. Après avoir validé l'utilisation de ce capteur sur un animal anesthésié, nous avons caractérisé sa sensibilité grâce à l'utilisation d'un fantôme permettant de simuler les mouvements respiratoires à différentes fréquences. La dernière série d'expériences menée chez un animal vigile démontre que ce capteur permet de recueillir à distance l'activité respiratoire tant pendant les périodes de respiration lente (éveil calme – sommeil) que lors des phases de flairage (respiration rapide) lorsque l'animal explore son environnement.

1. INTRODUCTION

La respiration ne se limite pas à fournir l'oxygène au corps mais régule de nombreux processus physiologiques et neuronaux. De par sa nature périodique, elle influence de façon rythmique les organes des sens et par là-même les rythmes du cerveau [1]. Or ces rythmes sont des éléments capitaux dans la perception de l'environnement, la mise en mémoire des informations, et la production d'une réponse motrice adaptée [2]. Ainsi, la respiration pourrait jouer le rôle d'horloge centrale permettant au cerveau de coordonner de façon efficace l'activité de régions distantes et ainsi améliorer les processus sensoriels et cognitifs. Un dysfonctionnement de cette horloge, dans des pathologies telles que la maladie de Parkinson ou des pathologies du sommeil, entrainerait une perturbation des rythmes cérébraux et expliquerait en partie la dégradation des fonctions cérébrales.

Pour étudier ce lien entre respiration et rythmes cérébraux, il est nécessaire d'enregistrer simultanément l'activité des

structures nerveuses et le rythme respiratoire. Le modèle rongeur est parfaitement adapté à ce type d'étude et l'équipe Codage et Mémoire Olfactive du Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon possède une longue expérience de ce type de mesures. Pour étudier l'impact de ces rythmes sur les fonctions cognitives, ces enregistrements doivent être réalisés chez un animal libre de ses mouvements. Actuellement, deux solutions sont utilisées pour accéder au rythme respiratoire :

– soit réaliser l'expérience dans une cage de pléthysmographie dont le volume restreint implique une limitation des mouvements de l'animal [3];

– soit utiliser une approche invasive consistant à placer une canule dans la cavité nasale [4] qui provoque des processus inflammatoires et perturbe largement le flux d'air nasal dont nous savons qu'il joue un rôle important dans la genèse des rythmes cérébraux.

Dans le cadre du projet FreeRespi (Défi interdisciplinaire 2017 : L'instrumentation aux limites - CNRS – Mission interdisciplinarité), nous avons étudié la faisabilité d'une

méthode alternative, non-invasive, pour enregistrer l'activité respiratoire chez le rat libre de ses mouvements. La contrainte supplémentaire était de pouvoir faire ces mesures dans un espace expérimental suffisamment grand pour permettre à l'animal de réaliser des tâches comportementales complexes. Enfin, le système de mesure devait pouvoir suivre les changements de fréquence respiratoire dont on sait qu'elle varie entre 1 et 12 Hz chez l'animal engagé dans une tâche comportementale [5]. Nous avons, donc, dans un premier temps, cherché à déterminer le ou les capteurs appropriés, c'est-à-dire ceux permettant de recueillir les informations pertinentes de l'activité respiratoire tout en répondant à nos contraintes expérimentales. Après avoir déterminé la sensibilité et les limites du capteur choisi à l'aide d'un dispositif permettant de simuler des mouvements respiratoires, nous avons validé son utilisation sur notre modèle animal.

2. CHOIX DU CAPTEUR

L'état de l'art indique que plusieurs types de capteurs répondent à ce besoin :

- les microphones MEMS (Micro Electro Mechanical Systems). Ces composants miniatures mesurent les variations de pression acoustique liées aux alternances inspiration-expiration. Ils pourraient être assemblés sous forme de matrice pour traiter les signaux sonores et détecter au mieux la source de respiration [6].
- les caméras thermiques pour enregistrer les écarts de température entre l'air ambiant (inspiré) et l'air expiré. La thermographie est une technique de diagnostic sans contact, qui permet de visualiser et quantifier précisément les modifications thermiques de surface.
- les capteurs de champ électrique. Ces capteurs réalisent une mesure capacitive des variations du potentiel électrique. Dans cette catégorie, le capteur EPIC (Electric Potential Integrated Circuit) a été utilisé pour l'électrocardiographie sans contact chez l'Homme [7] et a été testé pour des mesures physio-comportementales chez le rongeur [8].
- les capteurs piézoélectriques. Ils permettent de mesurer les vibrations induites par les mouvements respiratoires [9].
- les radars CMOS. Le déplacement lié à la respiration et la fréquence cardiaque peuvent être calculés en utilisant les

harmoniques générés dans le spectre de la bande de base du signal détecté par le radar [10].

- les transducteurs ultrasonores. Le décalage de fréquence produit par la différence de vitesse entre le flux d'air expiré et l'environnement ambiant est mesuré (effet Doppler). L'utilisation de fréquences ultrasonores bien au-dessus des fréquences audibles doit permettre de surveiller l'activité respiratoire sans perturber le sujet [11].
- les caméras vidéo. Associées à un traitement vidéo adéquat, elles permettent des mesures physiologiques, paramètres vitaux et quantification de l'état de stress [12].

Ces solutions techniques ont pour l'instant été utilisées pour des mesures chez un sujet immobile. Dans ce cas, les capteurs peuvent donc être placés à proximité et à une distance fixe de la source du signal (par exemple les narines de l'animal) et donc dans leur plage de sensibilité maximale. Lorsque l'animal est libre de ses mouvements, la distance entre le capteur et la source varie en permanence et les mouvements eux-mêmes peuvent induire un signal parasite. L'objectif de ce projet est donc de lever le verrou technologique qui limite ces mesures à un sujet contraint.

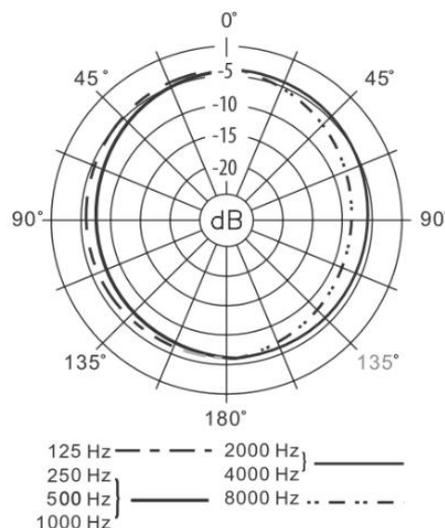
Nous avons choisi d'écarter l'utilisation du radar CMOS et du transducteur ultrasonore car ces techniques ne sont pas optimales pour garantir le bien-être animal. En effet, elles sont « actives » et potentiellement sources de perturbation chez l'animal. Ainsi, les ultrasons correspondent aux signaux d'alarme émis par les rongeurs lorsqu'ils sont stressés [3]. Dans le même ordre d'idée, nous n'avons pas retenu les capteurs piézo-électriques car ils sont implantés dans une ceinture placée autour du thorax du rat et représente donc une contrainte induisant un stress pour l'animal.

2.1 Test d'un microphone MEMS

Nous avons utilisé pour ces essais le microphone ECM8000 qui est un microphone omnidirectionnel à condensateur électret. Nous avons choisi ce micro pour sa réponse plate en fréquence dans la gamme 20 Hz - 20 kHz ainsi que sa grande sensibilité de 70 dB (Figure 1).

Les mesures ont été effectuées avec le microphone placé à 3 cm de la cage d'hébergement (Figure 2).

A cette distance, nous avons enregistré des signaux dont la fréquence est compatible avec celle de la respiration (Figure 3).



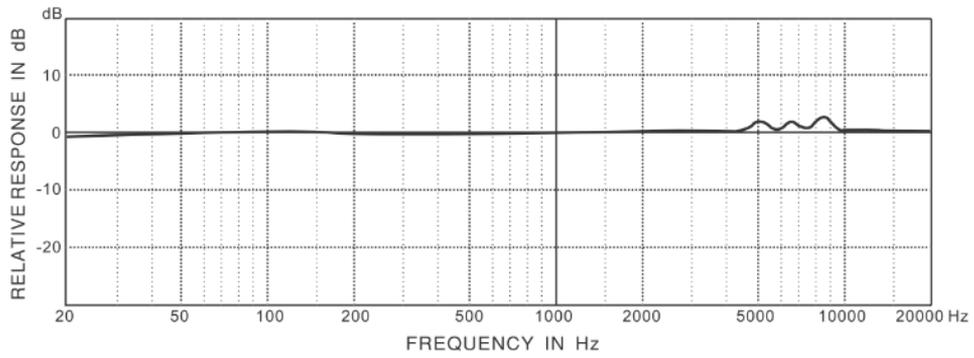


Figure 1. Réponse du microphone Behringer ECM8000
https://media.music-group.com/media/PLM/data/docs/P0118/ECM8000_P0118_S_EN.pdf

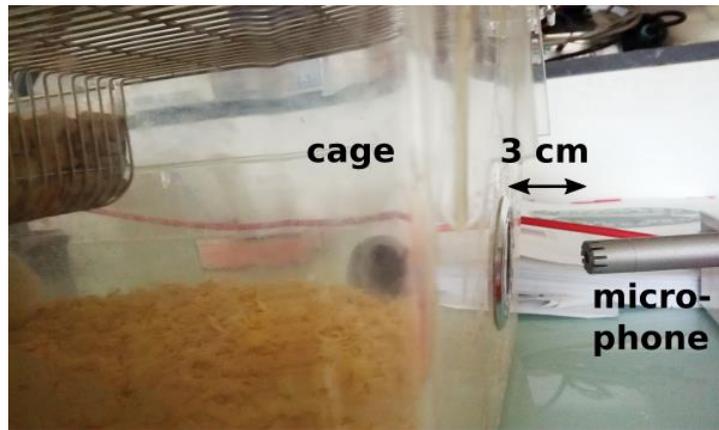


Figure 2. Positionnement du microphone devant la cage

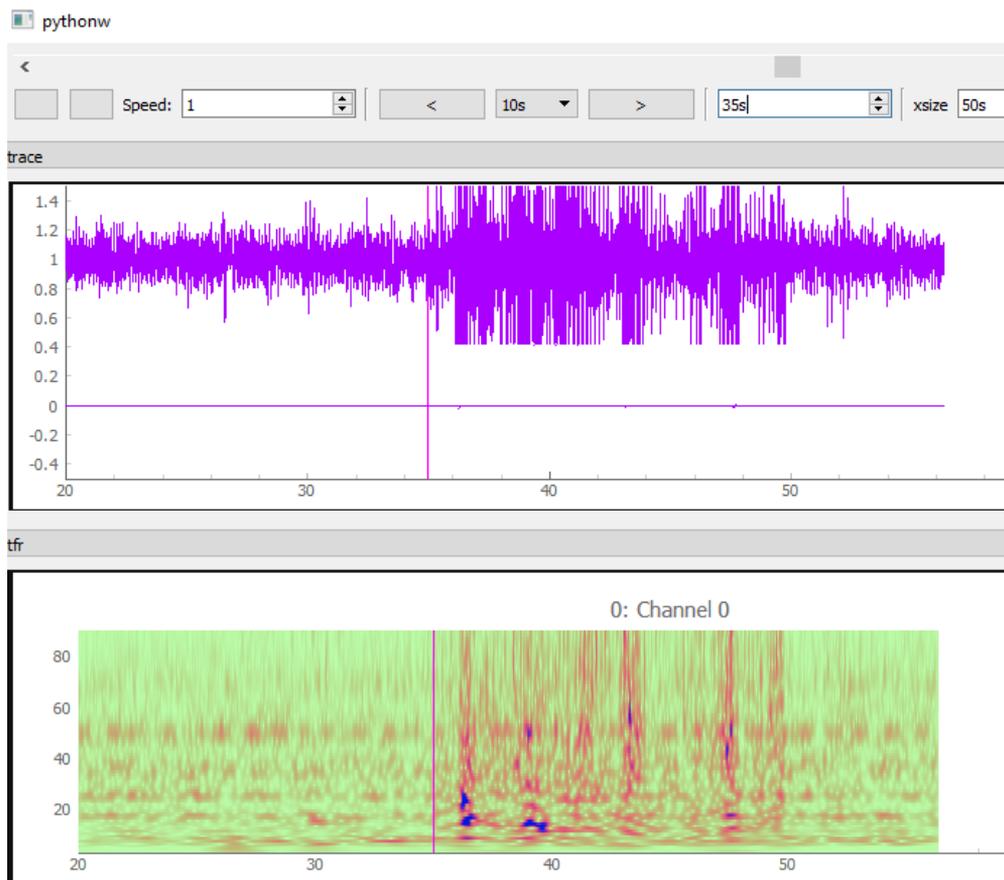


Figure 3. Enregistrement de la respiration de l'animal : signal temporel (tracé du haut) et courbe temps-fréquence (tracé du bas)

Malheureusement, lorsque le microphone était placé au-delà de 3 cm, plus aucun signal n'était détecté ce qui rendait difficile l'utilisation de cette solution technique pour enregistrer la respiration dans une grande enceinte expérimentale. De plus cette approche implique de placer le système expérimental dans une chambre isolée phoniquement afin d'éviter tout son parasite extérieur.

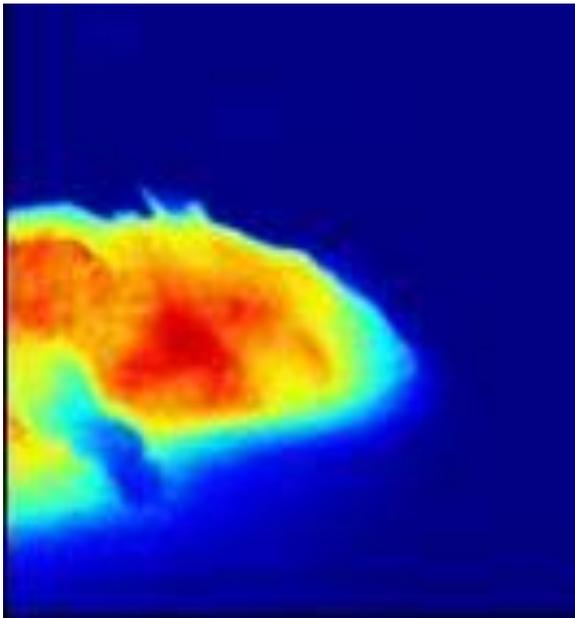


Figure 4. Image thermique de la tête du rat : respiration non visible

2.2 Test caméra thermique

Dans une étude récente, Esquivelzeta Rabell et al. [13] ont

montré qu'il était possible de mesurer l'activité respiratoire à l'aide d'une caméra infrarouge rapide. Cette étude a été réalisée chez le rat vigile contraint. Le prix très élevé d'une telle caméra nous a conduit à tester un autre modèle : la caméra thermique ThermApp TH pour Android de chez Flir. Pour nos essais la caméra était proche du rat immobile. Nous avons pu ainsi enregistrer la température du corps de l'animal (Figure 4) mais malheureusement pas les variations rapides de températures de l'air devant le nez du rat qui doivent correspondre aux phases inspiration et expiration de l'animal. Nous avons donc renoncé à cette technique.

2.3 Test du capteur EPIC

Après avoir éliminé plusieurs des solutions techniques envisagées au départ, nous avons réalisé un test préliminaire du capteur EPIC, celui-ci ayant déjà été utilisé pour des mesures physio-comportementales chez le rongeur [8]. Ce test avait pour but de vérifier que ce capteur pouvait détecter l'activité respiratoire en comparant le signal recueilli avec celui mesuré par nos capteurs utilisés en routine chez l'animal anesthésié (donc parfaitement immobile). Nous avons donc enregistré simultanément le signal de référence issu de la mesure classique du flux respiratoire par un capteur de débit placé dans le nez du rat [14], et le signal fourni par le capteur EPIC placé à proximité du rongeur.

Nous constatons sur les oscillogrammes enregistrés simultanément (Figure 5) que le signal respiratoire recueilli par le capteur EPIC est parfaitement synchrone avec celui du capteur de débit lors d'une mesure du rythme respiratoire lent. Il présente une amplitude environ dix fois plus importante que celle du signal de référence et un meilleur rapport signal sur bruit. Ces observations valident le choix de cette solution technique pour l'enregistrement des signaux respiratoires du rongeur.

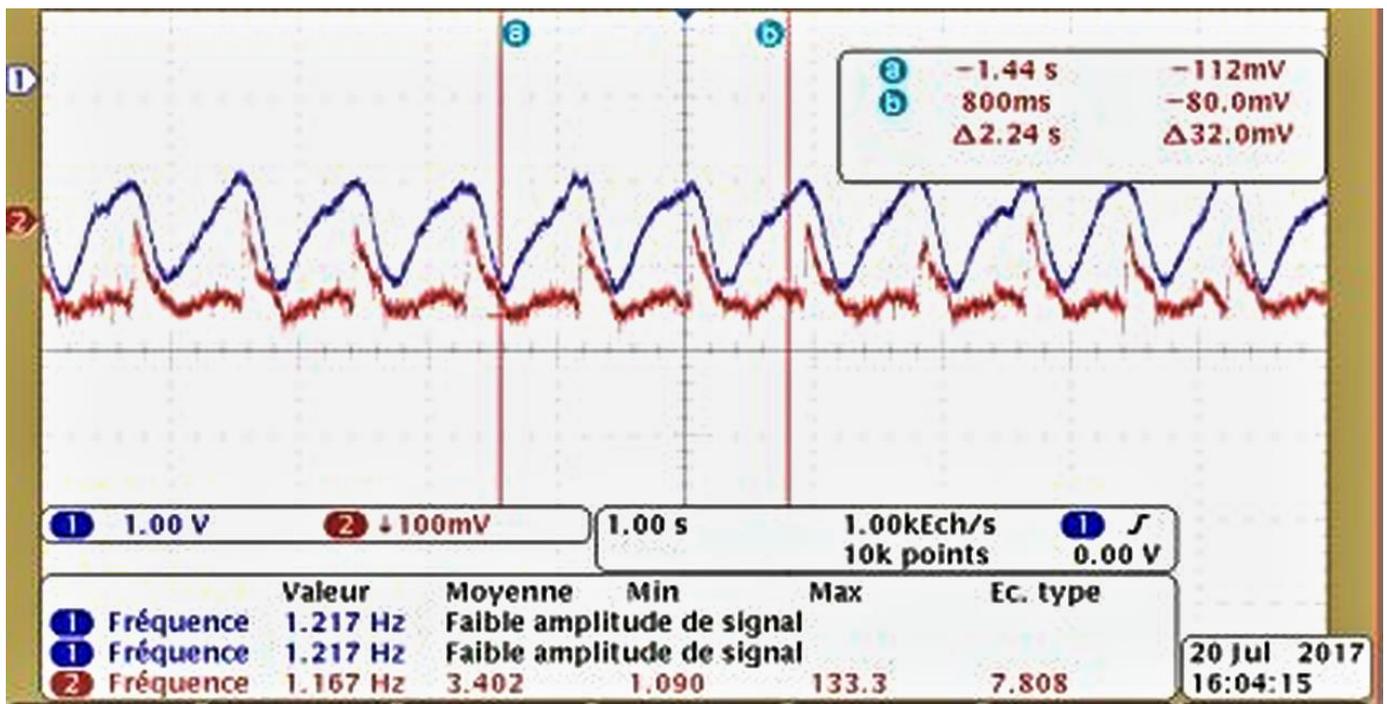


Figure 5. Enregistrement simultané du signal respiratoire, sur rat anesthésié, grâce à un capteur EPIC (en bleu), et à un capteur de débit placé devant la cavité nasale (en rouge)

3. CAPTEUR RETENU: EPIC

Le capteur EPIC (Electric Potential Integrated Circuit) mis au point par Plessey Semiconductors est une évolution de l'EPS (Electric Potential Sensor) développé à l'université du Sussex [15] avec intégration de l'électrode capacitive et de la chaîne électronique. Ce capteur réalise une mesure capacitive non-invasive ou sans contact des variations du potentiel électrique spatial liées aux perturbations du champ électrique ambiant causées par un corps vivant en mouvement.

3.1 Principe physique

Le capteur EPIC agit comme un voltmètre sans contact. Il est constitué d'une électrode métallique, couplée à un circuit électronique de très haute impédance d'entrée. Ce capteur détecte, sans perturber l'environnement, les changements du potentiel électrique spatial environnant. L'EPIC est conçu pour mesurer des changements infimes de ce potentiel électrique avec une résolution de quelques millivolts. Pour mettre cette valeur en perspective, il est important de rappeler que le champ électrique, à la surface de la terre, est d'environ 100 V/m (Figure 6).

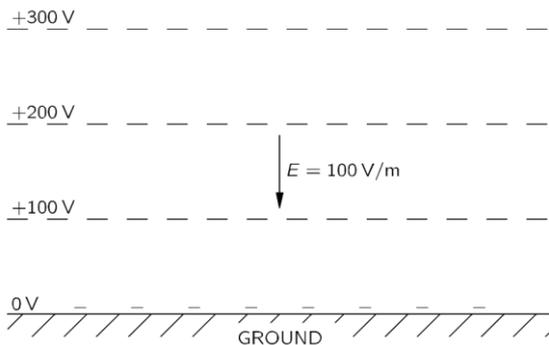


Figure 6. Distribution du potentiel électrique au-dessus de la terre. Extrait de "The Feynman lectures on physics" [16]

Tout objet isolé placé dans ce champ électrique va accumuler des charges selon deux mécanismes possibles : sa polarisation, par le simple fait d'être placé dans ce champ (augmentation du potentiel de l'objet jusqu'au potentiel en ce point du champ), ou la tribo-électricité qui fait qu'un objet peut être chargé soit par le frottement, soit par le contact avec un autre matériau (l'air ambiant, le sol, ...).

Un objet conducteur en contact avec la terre provoque une distorsion du gradient de potentiel vertical (Figure 7).

Pour un objet isolé comme pour un objet conducteur, leur mise en mouvement entraîne une variation du champ électrique.

Ainsi, les différents mécanismes mentionnés ci-dessus permettent au mouvement d'être détecté en utilisant une technique passive et sans contact basée uniquement sur la détection de la variation du champ électrique.

Cette technique fonctionne si l'objet en mouvement n'est pas masqué par des matériaux conducteurs reliés à la terre. La présence de matériaux non-conducteurs ou de matériaux conducteurs correctement isolés de la terre ne perturbent pas les mesures. Ce point est particulièrement intéressant pour notre application puisque nous souhaitons détecter les mouvements de la cage thoracique du rongeur, image de l'activité respiratoire, sans contact et au travers des parois de la cage de repos.

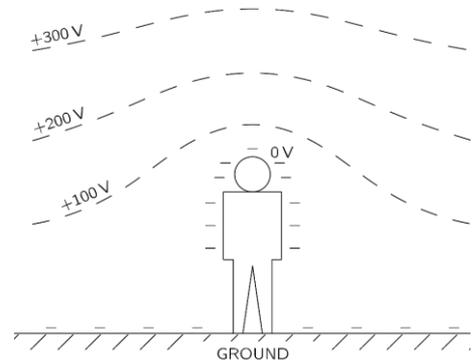


Figure 7. Distribution du potentiel électrique autour d'un humain dans un espace ouvert. Extrait de "The Feynman lectures on physics" [16]

3.2 Conditionnement intégré

Le capteur EPIC utilisé intègre l'électrode de mesure et l'électronique associée (Figure 8).

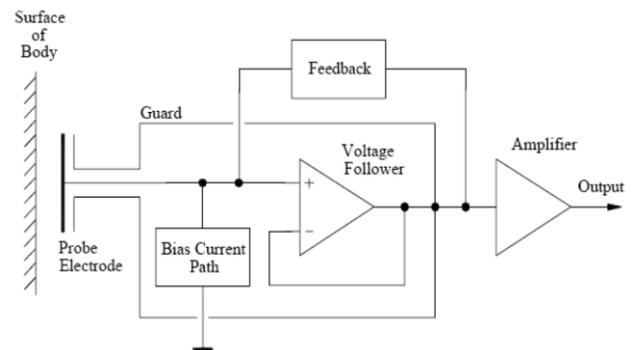


Figure 8. Schéma-bloc du capteur EPIC (Plessey Semiconductors, 2013)

Pour ne pas perturber la mesure, l'amplificateur intégré doit présenter une impédance d'entrée très élevée, une capacité d'entrée très faible et une bonne immunité au bruit.

Les techniques de positive feedback sont utilisées pour répondre à ce cahier des charges :

- (1) le montage bootstrap permet de maintenir une impédance d'entrée de l'amplificateur élevée indépendamment de l'impédance ramenée par l'électrode,
- (2) la neutralisation de la capacité parasite d'entrée permet d'obtenir une capacité équivalente tendant vers zéro
- (3) l'anneau de garde se comporte comme un blindage qui protège le signal du bruit [17].

Le capteur EPIC utilisé (PS25012A1) présente les caractéristiques suivantes:

- (1) impédance d'entrée: 50 GΩ;
- (2) capacité d'entrée: 10 pF,
- (3) gain en tension: 50,
- (4) bande passante: 0,2 Hz à 4 kHz.

Le capteur EPIC étant sensible aux variations du champ électrique environnant, sa réponse correspond donc à la superposition des mouvements respiratoires du rongeur (faible amplitude) et des mouvements des expérimentateurs présents autour de la cage (grande amplitude). Afin d'isoler le système à étudier (le rat) des perturbations extérieures, nous avons élaboré une cage de Faraday grillagée pouvant contenir la cage de repos du rongeur tout en conservant un visuel sur le rat.

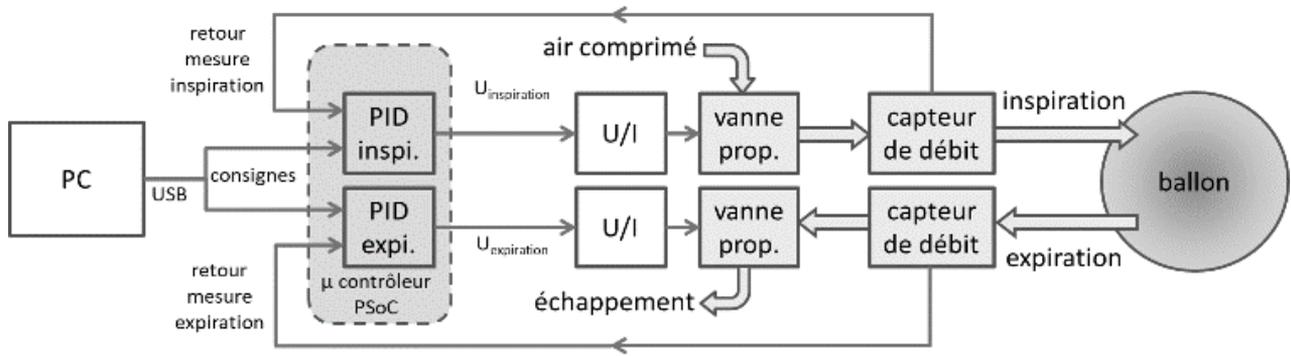


Figure 9. Synoptique du simulateur de respiration

4. CARACTERISATION DU CAPTEUR EPIC A L'AIDE D'UN SIMULATEUR DE RESPIRATION

4.1 Description du simulateur de respiration

Dans le cadre du bien-être animal, la réglementation européenne impose la règle éthique des 3R (Remplacement, Réduction du nombre d'animaux, Raffinement). Bien que notre système ne soit pas invasif, nous avons développé un fantôme simulant les mouvements de la cage thoracique du rat lors de la respiration. Ce dispositif nous permet de tester les performances du capteur sans utiliser d'animal. La cage thoracique est modélisée par un ballon de baudruche. Celui-ci est animé par un simulateur de respiration (Figure 9) permettant de reproduire le décours temporel d'un cycle respiratoire et d'en ajuster la fréquence et les volumes d'air correspondant à l'inspiration et à l'expiration d'un rat. Ce dispositif a déjà été utilisé chez l'animal anesthésié pour simuler, dans la cavité nasale, les variations de débit et de fréquence respiratoires observés chez l'animal vigile et étudier leur impact sur l'activité cérébrale [18, 19].

Pour ce simulateur, nous utilisons :

- les vannes proportionnelles miniatures VSO (Parker) permettant de contrôler très précisément un débit d'air en fonction d'un courant d'entrée (Figure 10);
- les capteurs de débit AWM5101 (Honeywell) de réponse linéaire (Figure 11)
- le microcontrôleur 32 bit 80 MHz (CY8C5888LTI-LP097, Cypress)

Nous avons implémenté dans le microcontrôleur un asservissement numérique de type PID avec un système anti-emballement. En effet, le capteur de débit et la vanne proportionnelle ont des zones de saturation qui provoquent un emballement du terme intégral. Nous avons donc utilisé une structure parallèle où les 3 termes P, I et D sont calculés séparément. Cette structure permet de limiter le terme intégral dans les zones de saturation (Figure 12).

4.2 Etude des réponses spatiales et fréquentielles du capteur EPIC

L'objectif de cette étude étant la mesure de la respiration du rat dans un grand espace expérimental, ce simulateur nous a permis de réaliser la cartographie de réponse du capteur EPIC en fonction de son éloignement et de son orientation par rapport au fantôme. En nous basant sur la surface correspondant à la taille standard d'une cage d'hébergement (40 cm x 60 cm), nous avons positionné le capteur sur

différents repères (Figure 13a) et mesuré la valeur crête à crête du signal en sortie du capteur. Les relevés de mesure confirment que le capteur EPIC fournit un signal exploitable permettant de déterminer la valeur de la fréquence, quelle que soit sa position dans la surface d'intérêt (Figure 13b). De plus, ces tests ont permis de s'assurer de la répétabilité des mesures.

La fréquence de respiration du rongeur variant entre 1 Hz (sommeil) et 10 Hz (flairage), nous avons aussi testé la réponse du capteur sur cette plage de fréquences (Figure 14).

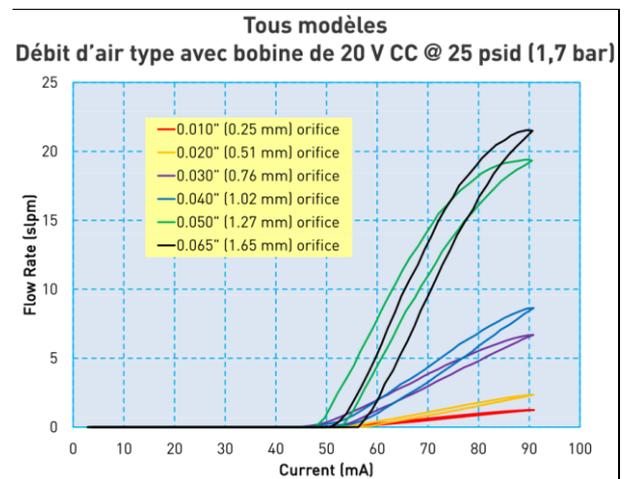


Figure 10. Caractéristiques de la vanne proportionnelle VSO (Parker)

https://www.parker.com/literature/LiteratureFiles/PrecisionFluidicsDivision/UpdatedFiles/ProportionalCatalog_2013_Lowres_FR.pdf

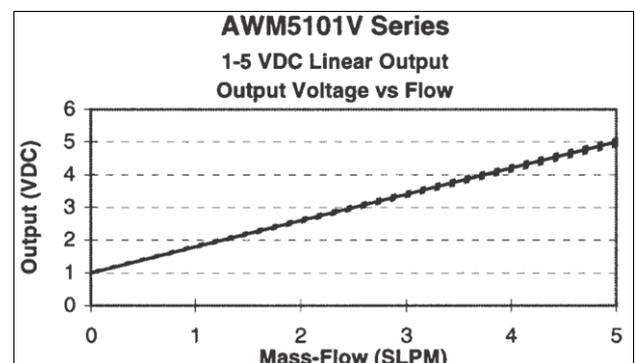


Figure 11. Caractéristique du capteur de débit AWM5101 (Honeywell) <https://sensing.honeywell.com/honeywell-sensing-airflow-awm50000-series-catalog-pages.pdf>

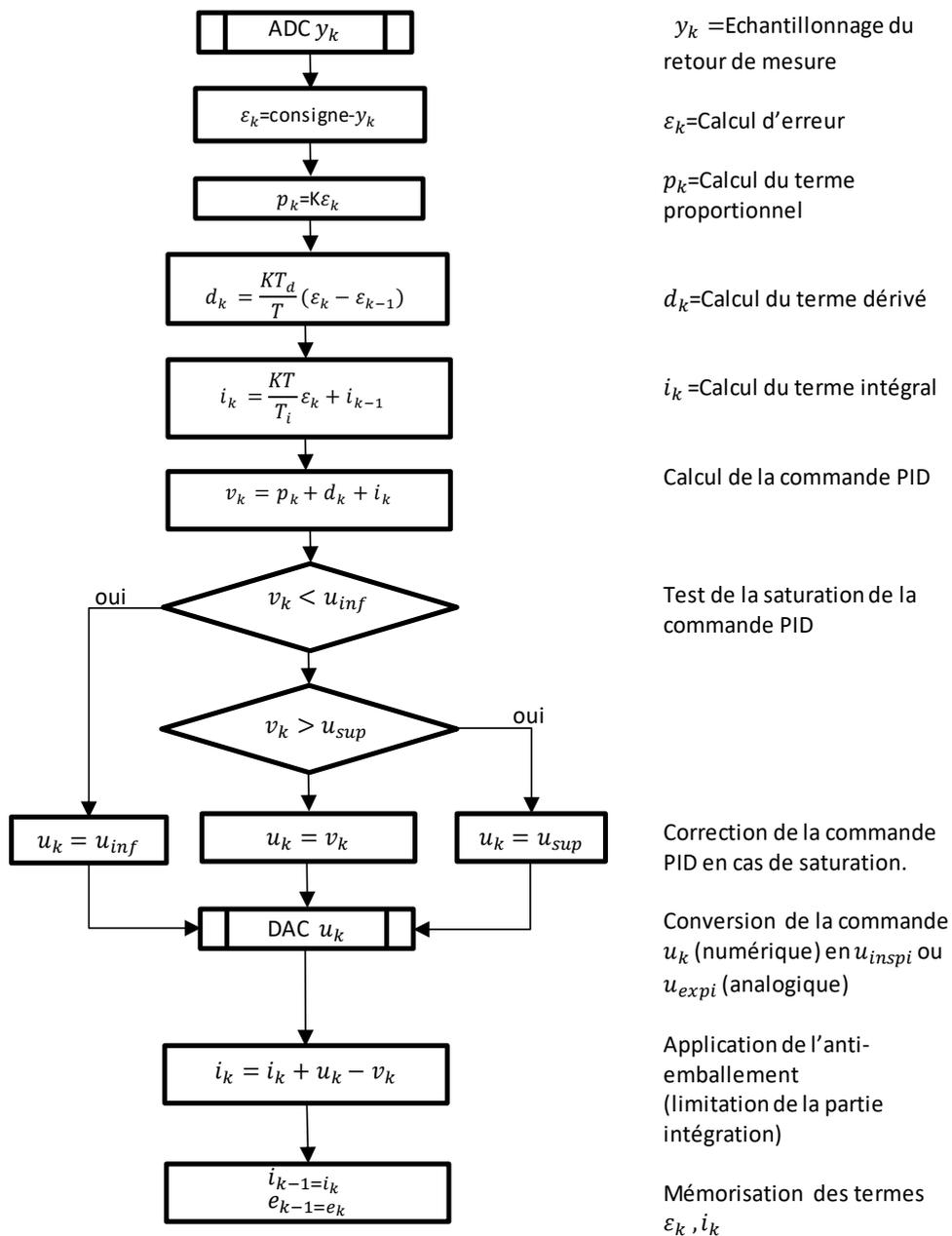
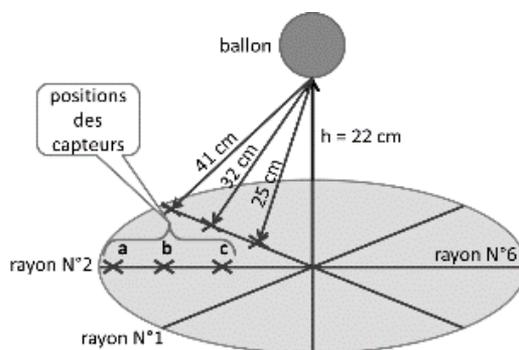
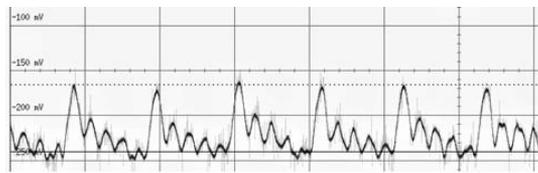


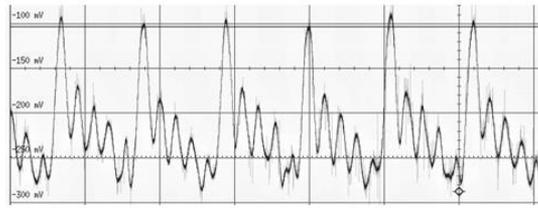
Figure 12. Algorithme de régulation PID du simulateur de respiration



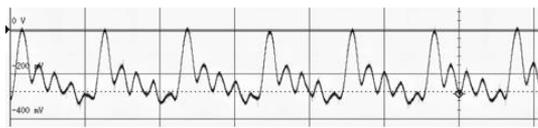
(a) Capteur placé respectivement aux positions a, b, c sur les rayons 1 à 8



position a : $\Delta V = 80 \text{ mV}$

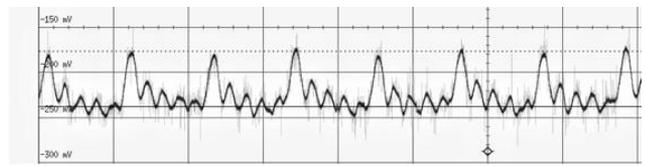


position b : $\Delta V = 145 \text{ mV}$

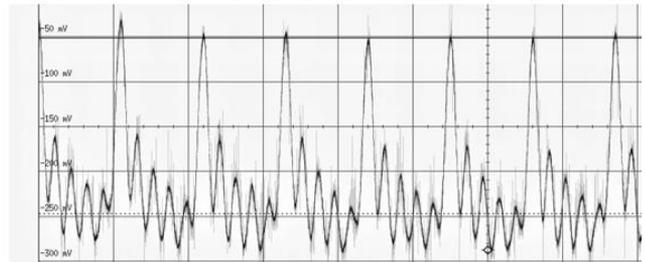


position c : $\Delta V = 273 \text{ mV}$

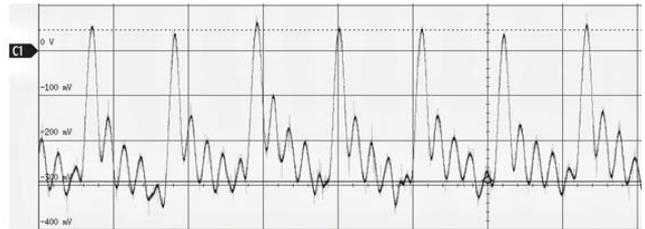
(b) Réponses sur le rayon 1



position a : $\Delta V = 62 \text{ mV}$



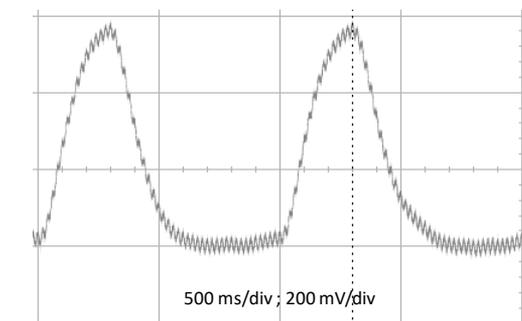
position b : $\Delta V = 195 \text{ mV}$



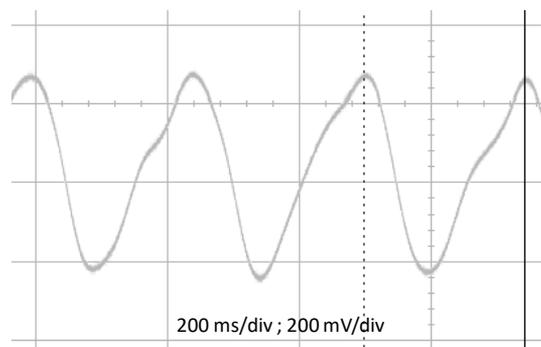
position c : $\Delta V = 337 \text{ mV}$

Réponses sur le rayon 2

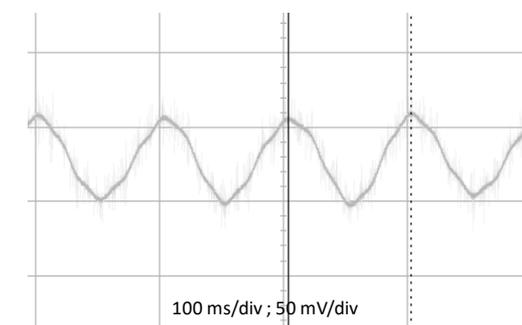
Figure 13. Réponse du capteur EPIC en fonction de la distance par rapport au fantôme



$f \approx 1 \text{ Hz}$



$f \approx 4 \text{ Hz}$



$f \approx 10 \text{ Hz}$

Figure 14. Réponse du capteur EPIC en fonction de la fréquence respiratoire simulée

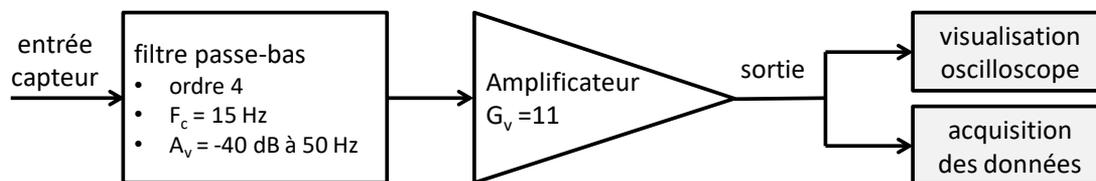


Figure 15. Chaîne de traitement et d'acquisition

Les résultats obtenus avec le simulateur de respiration confirment que le capteur EPIC permet de suivre les mouvements respiratoires simulés dans la gamme de fréquence physiologique (1-10 Hz) et ce à une distance suffisante permettant d'envisager son implantation dans une grande enceinte expérimentale.

Comme le montrent également ces données, la forme du signal dépend de la position du capteur par rapport à la source et ne permet donc pas d'envisager des mesures absolues de l'amplitude du signal respiratoire. Ce type de mesure n'est d'ailleurs possible que dans un système fermé du type pléthysmographe [3].

4.3 Chaîne de traitement et d'acquisition des signaux

La chaîne de traitement et d'acquisition (Figure 15) permet de filtrer et d'amplifier le signal fourni par le capteur et d'acquies les données sur de longues durées.

4.4 Analyse des données

Le traitement des données est réalisé avec une suite logicielle développée en Python au sein du laboratoire [20].

Le signal respiratoire peut être analysé de deux manières :

- Découpage du signal respiratoire en cycles individuels [14]. La fréquence respiratoire variant au cours du temps, nous avons développé une nouvelle méthode de représentation dans laquelle la durée d'un cycle respiratoire, qui varie d'un cycle à l'autre, est transformée en phase par rapport au cycle respiratoire. Cette nouvelle échelle, commune à tous les cycles, sert de base pour la représentation et le moyennage de l'activité à travers les cycles respiratoires.

- Représentation temps-fréquence basée sur l'analyse en ondelette [21, 22] (Figure 19). Cette méthode nous permet de suivre l'évolution de la fréquence respiratoire au cours du temps. En utilisant un seuil d'amplitude, on peut déterminer le début et la fin des épisodes de respiration rapide et de respiration lente. Ces marqueurs temporels permettent de délimiter des périodes au cours desquelles sont analysées finement les activités cérébrales et comportementales enregistrées simultanément.

5. RÉSULTATS OBTENUS CHEZ L'ANIMAL VIGILE

Après avoir validé le choix du capteur EPIC sur notre modèle, nous avons réalisé une série de mesures en conditions réelles avec un animal vigile libre de ses mouvements. Les mesures ont été effectuées dans la cage d'hébergement placée dans l'enceinte de Faraday (Figure 16).

La cage d'hébergement, en matériau non-conducteur, ne perturbe pas le champ électrique environnant. Les mesures des variations du potentiel électrique liées au signal respiratoire peuvent donc être réalisées depuis l'extérieur de la cage. Les deux capteurs EPIC sont positionnés horizontalement sous la

cage d'hébergement à environ 1.5 cm du fond (Figure 17). Ainsi, ils sont inaccessibles aux rongeurs.

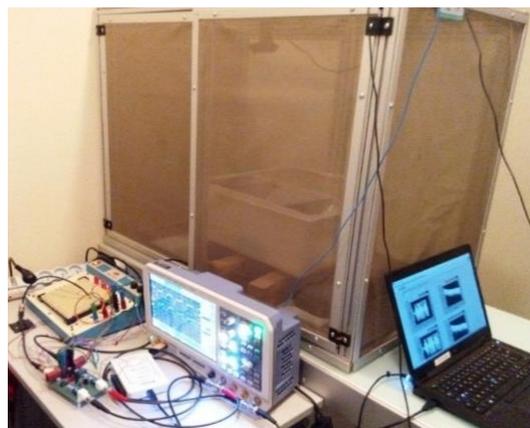


Figure 16. Cage d'hébergement dans la cage de Faraday avec l'instrumentation associée

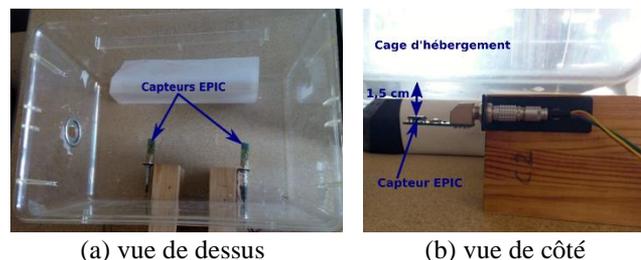


Figure 17. Positionnement des capteurs par rapport à la cage d'hébergement

Dans la phase de sommeil du rat, le signal enregistré de fréquence 1.9 Hz et de valeur crête à crête d'environ 6 V correspond à la respiration lente (Figure 18).

Le rat étant en phase de sommeil, l'envoi d'une odeur provoque son réveil et le déclenchement de l'activité de flairage (Figure 19).

Les données recueillies démontrent que le capteur EPIC permet de visualiser l'activité respiratoire du rat pendant les périodes d'éveil calme ou de sommeil (respiration lente), comme nous l'avons déjà montré chez le rat anesthésié. Mais nous pouvons aussi mesurer l'activité de flairage (respiration rapide) lorsque l'animal explore son environnement.

Ces données respiratoires seront enregistrées simultanément avec les activités cérébrales et le signal vidéo permettant d'étudier le comportement de l'animal. Il est ainsi possible, en partant du signal vidéo, de rechercher quel motif respiratoire est utilisé par l'animal à une période précise de la tâche (par exemple lors de l'échantillonnage de l'odeur).

Dans l'autre sens, l'analyse du signal respiratoire permettra d'extraire des périodes d'intérêts (par exemple un épisode de flairage rapide) et de déterminer les caractéristiques de l'activité cérébrale au cours de cette même période.

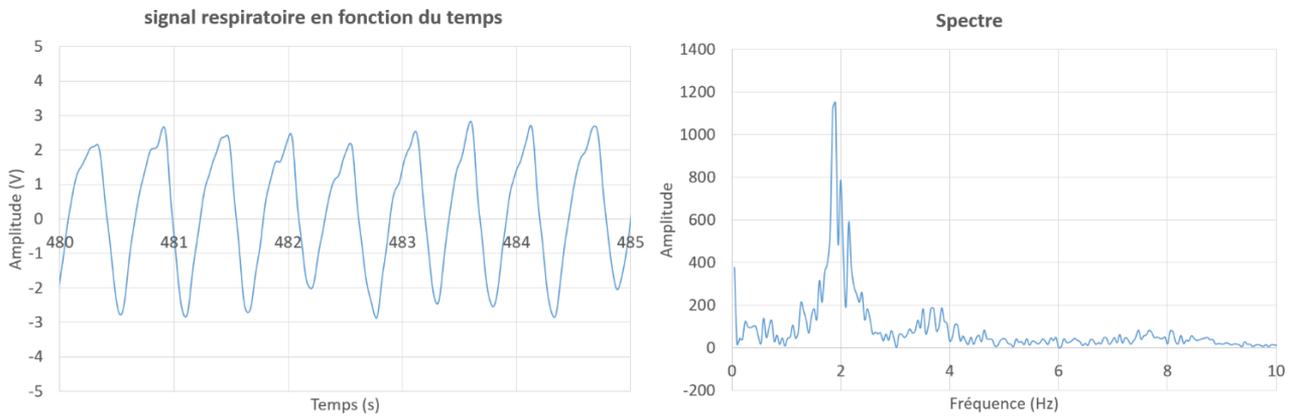


Figure 18. Mesures sur rat vigile et non contraint : sommeil, respiration lente, à environ 1,9 Hz

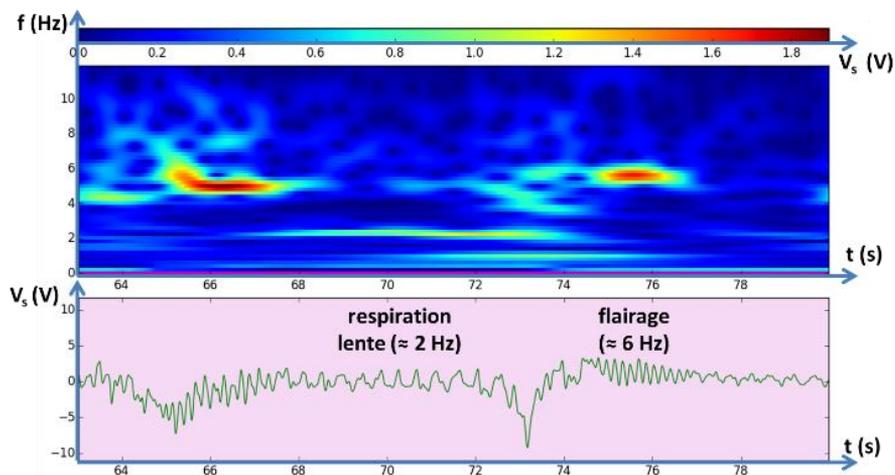


Figure 19. Mesures sur rat vigile et non contraint : respiration lente et passage en activité

6. CONCLUSION

L'ensemble des résultats obtenus, tant avec le fantôme qu'avec le rat vigile dans sa cage d'hébergement, démontrent que les capteurs EPIC répondent à nos contraintes expérimentales et physiologiques. En effet, nous avons pu enregistrer l'activité respiratoire dans une plage de fréquence correspondant aux données physiologiques. Ainsi, les phases de respiration lente et de flairage sont clairement différenciées.

Lors de ces enregistrements, les capteurs EPIC, non émissifs, sont placés à l'extérieur de la cage. Les mesures sont donc réalisées sans contact, sans perturber l'animal et son environnement. Ceci répond ainsi à l'objectif d'amélioration du bien-être animal.

Nous poursuivons actuellement le développement de ce système par une démarche expérimentale en cherchant à optimiser le nombre et le placement des capteurs afin de couvrir tout le volume de l'espace expérimental ($L = 60$ cm, $H = 50$ cm, $l = 40$ cm), et d'améliorer le rapport signal sur bruit. Une des limites actuelles est liée aux mouvements de l'animal qui induisent un signal venant parasiter celui correspondant aux mouvements respiratoires. Une première solution, relativement simple à mettre en œuvre consiste à placer les capteurs EPIC dans les zones d'intérêt de l'enceinte expérimentale, comme par exemple un port délivrant une odeur que l'animal doit échantillonner. Parmi les solutions à plus long terme envisagées pour résoudre ce problème, nous allons étudier l'apport d'autres types de capteurs pour isoler

les mesures de l'activité respiratoire, du mouvement du rongeur.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the CNRS (Grant: Défi interdisciplinaire 2017: L'instrumentation aux limites).

REFERENCES

- [1] Buonviso, N., Amat, C., Litaudon, P. (2006). Respiratory modulation of olfactory neurons in the rodent brain. *Chem. Senses*, 31(2): 145-154. <http://dx.doi.org/10.1093/chemse/bjj010>
- [2] Lefevre, L., Courtiol, E., Garcia, S., Thevenet, M., Messaoudi, B., Buonviso, N. (2016). Significance of sniffing pattern during the acquisition of an olfactory discrimination task. *Behav. Brain Res.*, 312: 341-354. <https://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2016.06.039>
- [3] Hegoburu, C., Shionoya, K., Garcia, S., Messaoudi, B., Thévenet, M., Mouly, A.M. (2011). The RUB cage: Respiration-ultrasonic vocalizations-behavior acquisition setup for assessing emotional memory in rats. *Front. Behav. Neurosci.*, 5: 25. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2011.00025>
- [4] Verhagen, J.V., Wesson, D.W., Netoff, T.I., White, J.A.,

- Wachowiak, M. (2007). Sniffing controls an adaptive filter of sensory input to the olfactory bulb. *Nat. Neurosci.*, 10: 631-639. <https://doi.org/10.1038/nn1892>
- [5] Youngentob, S.L., Mozell, M.M., Sheeche, P.R., Hornung, D.E. (1987). A quantitative analysis of sniffing strategies in rats performing odor detection tasks. *Physiol. Behav.*, 41(1): 59-69. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(87\)90131-4](https://doi.org/10.1016/0031-9384(87)90131-4)
- [6] Dafna, E., Rosenwein, T., Tarasiuk, A., Zigel, Y. (2015). Breathing rate estimation during sleep using audio signal analysis. 2015 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), Milan, Italy, pp. 5981-5984. <https://doi.org/10.1109/EMBC.2015.7319754>
- [7] Magno, M., Spagnol, C., Benini, L., Popovici, E. (2014). A low power wireless node for contact and contactless heart monitoring. *Microelectronics Journal*, 45(12): 1656-1664. <https://doi.org/10.1016/j.mejo.2014.07.002>
- [8] Noble, D., Macdowell, C., Mackinnon, M., Neblett, T., Goolsby, N., Hochman, S. (2017). Use of electric field sensors for recording respiration, heart rate, and stereotyped motor behaviors in the rodent home cage. *J. Neurosci. Meth.*, 277: 88-100. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2016.12.007>
- [9] Shino, T., Watanabe, K., Kobayashi, K., Suzuki, K., Kurihara, Y. (2010). Noninvasive biosignal measurement of a subject in bed using ceramic sensors. SICE Annual Conference 2010, Taipei, Taiwan.
- [10] Huang, T.Y., Lin, J., Hayward, L. (2015). Non-invasive measurement of laboratory rat's cardiorespiratory movement using a 60-GHz radar and nonlinear Doppler phase modulation. 2015 IEEE MTT-S 2015 International Microwave Workshop Series on RF and Wireless Technologies for Biomedical and Healthcare Applications (IMWS-BIO), Taipei, Taiwan. <http://dx.doi.org/10.1109/IMWS-BIO.2015.7303788>
- [11] Arlotto, P., Grimaldi, M., Naeck, R., Ginoux, J.M. (2014). An ultrasonic contactless sensor for breathing monitoring. *Sensors*, 14(8): 15371-15386. <https://doi.org/10.3390/s140815371>
- [12] Bousefsaf, F. (2014). Mesure sans contact de l'activité cardiaque par analyse du flux vidéo issu d'une caméra numérique : extraction de paramètres physiologiques et application à l'estimation du stress. Thèse, Université de Lorraine.
- [13] Esquivelzeta Rabell, J., Mutlu, K., Noutel, J., Martin del Olmo, P., Haesler, S. (2017). Spontaneous rapid odor source localization behavior requires interhemispheric communication. *Curr. Biol.*, 27: 1542-1548. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.04.027>
- [14] Roux, S., Garcia, S., Bertrand, B., Cenier, T., Vigouroux, M., Buonviso, N., Litaudon, P. (2006). Respiratory cycle as time basis: An improved method for averaging olfactory neural events. *Journal of Neuroscience Methods*, 152(1-2): 173-178. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2005.09.004>
- [15] Beardsmore-Rust, S.T. (2010). Remote applications of electric potential sensors in electrically unshielded environments. University of Sussex.
- [16] Feynman, R., Leighton, R.B., Sands, M. (1963). The Feynman lectures on physics. Volume II, Mainly Electromagnetism and Matter. http://www.feynmanlectures.caltech.edu/II_09.html.
- [17] Kuronen, E. (2013). EPIC sensors in electrocardiogram measurement. Master's Thesis Degree Programme in Information Technology, Oulu University of Applied Sciences.
- [18] Courtiol, E., Hegoburu, C., Litaudon, P., Garcia, S., Fourcaud-Trocmé, N., Buonviso, N. (2011). Individual and synergistic effects of sniffing frequency and flow rate on olfactory bulb activity. *J. Neurophysiol.*, 106(6): 2813-2824. <https://doi.org/10.1152/jn.00672.2011>
- [19] Esclassan, F., Courtiol, E., Thevenet, M., Garcia, S., Buonviso, N., Litaudon, P. (2012). Faster, deeper, better: The impact of sniffing modulation on bulbar olfactory processing. *PLoS One*, 7(7): e40927. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040927>
- [20] Garcia, S., Fourcaud-Trocmé, N. (2009). OpenElectrophy: An Electrophysiological Data- and Analysis-Sharing Framework. *Front. Neuroinform.*, 3: 14. <https://doi.org/10.3389/neuro.11.014.2009>
- [21] Kronland-Martinet, R., Morlet, J., Grossmann, A. (1987). Analysis of sound patterns through wavelet transforms. *Int. J. Patt. Recogn. Art. Intell.*, 1(2): 273-302. <https://doi.org/10.1142/S0218001487000205>
- [22] Roux, S.G., Cenier, T., Garcia, S., Litaudon, P., Buonviso, N. (2007). A wavelet-based method for local phase extraction from a multi-frequency oscillatory signal. *J. Neurosci. Meth.*, 160(1): 135-143. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2006.09.001>