



HAL
open science

Contribution au développement d'interfaces neuro-électroniques

Myline Cottance

► **To cite this version:**

Myline Cottance. Contribution au développement d'interfaces neuro-électroniques. Electronique. Université Paris-Est, 2014. Français. NNT : 2014PEST1105 . tel-01128396

HAL Id: tel-01128396

<https://theses.hal.science/tel-01128396>

Submitted on 9 Mar 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



ECOLE DOCTORALE MSTIC
Mathématiques, Sciences et Techniques de l'Information et de la Communication

Thèse de doctorat

Spécialité : Génie électrique, électronique, photonique et systèmes

Présentée et soutenue publiquement par

Myline Cottance

Contribution au développement d'interfaces neuro-électroniques

Directrice de thèse : **Pr Gaëlle LISSORGUES**

Co-encadrant : **Dr Lionel ROUSSEAU**

le 21 Novembre 2014

Composition du jury:

Pr Thérèse LEBLOIS	Femto-St	Rapporteur
Dr Olivier FRANCAIS	ENS Cachan	Rapporteur
Dr Clément LENA	ENS Paris	Examineur
Dr Lucas BERDONDINI	Institut Italien de Technologie	Examineur
Pr Gaëlle LISSORGUES	Université Paris-Est, ESIEE-Paris	Directrice de thèse
Dr Lionel ROUSSEAU	ESIEE-Paris	Encadrant de thèse

Remerciements

Ces 3 années ont été très enrichissantes et certainement les plus belles années de ma vie tant au niveau personnel que professionnel. J'ai beaucoup appris sur moi-même, mes limites, ma capacité à gérer le stress et à m'adapter au sein du labo et travailler avec différentes équipes mais j'ai surtout appris énormément des autres. J'ai eu la chance de travailler et d'apprendre auprès d'incalculables équipes auxquelles je remercie :

l'INICIA : Blaise Yvert et Sébastien Joucla avec qui nous avons obtenus les premiers tests in-vitro des MEA fourchettes,

l'IMS : Sylvie Renaud, Noëlle Lewis et Yanick Bornat qui ont fait une grande avancée dans le codage des neurones artificiels

l>IDV : Serge Picaud et Julie Degardin qui nous a rendu possible le suivi in-vivo des rats. Merci à Manu et Alex pour leur aide technique et particulièrement à Julie qui a implanté tous les rats.

le CEA : Philippe Bergonzo, Emmanuel Scorsone, Alexandre Bongrain, Raphaël Kiran et Clément Hébert pour la croissance et leur expertise sur le diamant. Merci à Clément qui chaque semaine venait relever les impédances avec moi.

le LNF : Sandrine Martin pour sa convivialité et son accueil dans ses salles blanches, Brandon et le groupe d'étudiants avec qui j'ai été rattachée durant mon séjour pour tous les bons moments sociaux en groupe (canoeing, water gun games,...) et l'équipe du Pr Najafi avec Kevin Owen et Brian avec qui j'ai travaillé. Merci également à Zongliang, Codrin, David, Shawn et JongSoo pour leurs conseils, aide et soutien.

L'ESYCOM-ESIEE : mon laboratoire d'accueil où toute cette aventure n'aurait pas été possible sans ma directrice de thèse Gaëlle Lissorgues et mon encadrant Lionel Rousseau qui m'ont fait confiance et m'ont permis d'approfondir mais aussi de développer et de diversifier mes connaissances. Pour cela je vous en suis reconnaissante et vous remercie profondément. Merci Gaëlle qui durant mes oraux, lorsque je commençais à manquer de courage ou à douter, il me suffisait de me tourner vers toi qui a toujours ce hochement de tête et ce regard rempli de bienveillance qui me rassurent et m'encouragent à reprendre confiance. Merci Lionel qui a été très patient pour passer d'innombrables heures en salle blanche avec moi afin de partager tes précieuses techniques et ton savoir-faire.

Je remercie Bruno Mercier de m'avoir accueillie dans ses salles blanches de l'ESIEE où j'ai réalisé tous les dispositifs. Merci également à tous mes collègues de l'ESIEE qui ont

contribué à leur réalisation: Serge pour les dépôts de nitrure, Pascal pour les oxydes et d'avoir toujours pris ma défense et Farbod pour les PCB.

Je remercie également tous mes autres collègues qui m'ont côtoyée durant toutes ces années et dont leur bonne humeur et leur sourire égayent ma journée : Sylvie qui prend soin de nous avec ses délicieux gâteaux, K. pour toutes ses surprenantes et nombreuses compétences (parmi celles qui me sont permises de citer : technologue, psychologue et coach de vie), Marie-Laure pour son énergie, Nicolas, collègue de bureau mais aussi le gendarme des salles blanches avec qui j'ai dû apprendre à vivre le temps de cette thèse (bon courage à celui/celle qui aura mon bureau), Lionel B., Patrick, Frédéric,... Et enfin, merci aux étudiants, doctorants/post-doctorants : Julien pour ses compétences de MacGyver, Maïra pour son humour, le trio Sébastien W., William et Max pour leur grain de folie, David pour ses compétences en Matlab et Chenze, mon stagiaire pour son travail lorsque j'étais en rédaction.

Vous m'avez tous marquée et je ne vous oublierai pas. Merci pour tous ces moments. Puissent nos chemins se croiser encore à l'avenir...

Table des matières

<i>Lexique</i>	7
<i>Introduction générale</i>	9
Chapitre 1 : Interfaces neuro-électroniques	11
1. Le neurone	12
1.1 Structure et fonctionnement	12
1.2 Le potentiel d'action	13
2. Les différentes matrices de micro-électrodes (MEA)	14
2.1 Généralités	14
2.2 Les MEA planaires rigides.....	15
2.3 Les MEA tridimensionnelles rigides.....	17
2.3.1 Contexte de la recherche sur les MEA rigides	20
2.4 Les MEA souples.....	23
2.4.1 Contexte de la recherche sur les MEA souples	24
3. Positionnement des travaux et contribution	29
4. Conclusion	31
Chapitre 2 : Développement, réalisation et caractérisations électrochimiques de MEA rigides	33
1. Interface électrode-électrolyte	33
1.1 Mécanismes de transfert de charge et réactions à l'interface	34
1.2 Principe des mesures électrochimiques.....	37
1.2.1 Mesures électrochimiques avec un potentiostat	38
1.2.2 Mesures électrochimiques avec le NanoZ et ses connecteurs	40
2. Les matériaux d'électrode considérés	42
2.1 Le diamant	42
2.1.1 Ses propriétés physico-chimiques	44
2.1.2 Sa synthèse et sa croissance	47
2.2 Le platine	49
2.2.1 Protocole d'électrodéposition du platine noir	52
3. MEA planaires 60 voies	52
3.1 Design des MEA planaires.....	52
3.2 MEA en platine	53
3.3 MEA en diamant	54
3.3.1 Procédé de fabrication des MEA en diamant	54
3.3.2 Caractérisations électrochimiques des MEA platine et diamant	55
3.4 Design des MEA fourchettes	57
3.5 Procédé de fabrication de fourchettes en silicium.....	58
3.6 Procédé de fabrication de fourchettes en verre	59
4. Voie exploratoire de la gravure du verre	61
4.1 Principe de la gravure GDRIE	61
4.1.1 Description générale	61

4.2	Procédé et optimisation de la GDRIE	64
4.2.1	Principe de fabrication de structures 3D en verre	64
4.2.2	Design et optimisation du masque de protection	66
4.2.3	Procédé de gravure GDRIE développé au LNF	68
4.2.3.1	Observation des échantillons gravés au SEM	69
4.3	Tests de gravure humide au HF	71
5.	Electrodéposition de platine noir sur les fourchettes	76
5.1.1	Calcul du courant à appliquer	76
5.1.2	Montage et protocole	77
5.1.3	Mesures d'impédance	78
6.	Conclusion.....	79
Chapitre 3 : Développement, réalisation et caractérisations électrochimiques de MEA souples.....		81
1.	Concept des implants rétiniens.....	81
2.	Simulation avec COMSOL	82
2.1	Présentation rapide du logiciel	83
2.2	Construction du modèle	83
2.2.1	Physiques utilisées	84
2.2.2	Définition du modèle	85
2.2.3	Courant d'injection des électrodes	85
2.3	Résultats préliminaires en liquide physiologique.....	86
2.4	Récapitulatif.....	95
3.	Implants rétiniens planaires	98
3.1	Procédé de fabrication avec des électrodes en platine ou en or	98
3.2	Les optimisations technologiques	99
3.2.1	Contraintes des matériaux	99
3.2.1.1	Adhésion métal/polyimide	99
3.2.1.2	Adhésion polyimide/polyimide	100
3.2.2	Gravure du polyimide	101
3.2.3	Optimisation du masque de gravure.....	101
3.2.4	Récapitulatif.....	102
3.2.5	Electrodéposition de platine noir sur les implants	102
3.3	Procédé de fabrication avec des électrodes en diamant	105
3.4	Mesures électrochimiques d'implants rétiniens planaires	107
3.4.1	Impédance et premier tri avec le nanoZ.....	107
3.4.2	Voltamétrie cyclique	109
3.4.3	Impédances avec un potentiostat.....	110
3.4.3.1	Electrodes métalliques avant et après dépôt de platine noir	110
3.4.3.2	Comparaison du diamant et du platine noir.....	115
3.4.4	Caractérisation par pulse de tension des implants planaires	117
3.5	Récapitulatif.....	119
4.	Implants rétiniens tridimensionnels	121
4.1	Procédé de fabrication 3D tout polyimide	121
4.1.1	Fabrication du moule tridimensionnel et de l'implant tout polyimide	121
4.1.2	Tests biologiques	123
4.2	Procédé de fabrication 3D avec des électrodes en métal.....	124
4.2.1	Electrodéposition de platine noir sur les implants 3D.....	126
4.2.2	Mesures électrochimiques d'implants rétiniens tridimensionnels avec des électrodes en métal.....	129

4.3	Procédé de fabrication 3D avec des électrodes en diamant.....	131
5.	Conclusion.....	131
Chapitre 4 : Expériences biologiques		133
6.	MEA planaires rigides	133
6.1	Description du banc de mesure et protocole de préparation des échantillons	133
6.2	MEA planaire en diamant	136
6.2.1	Enregistrement de la moelle épinière avec une MEA 4×15	136
6.2.2	Enregistrements de la rétine in-vitro avec une MEA 8×8	136
6.3	MEA fourchettes.....	138
6.3.1	Enregistrement sur moelle épinière de raton.....	138
6.4	Récapitulatif.....	140
7.	Implants rétiens.....	140
7.1	Principe des mesures in-vivo	140
7.2	Chirurgie oculaire pour la pose d'implant dans l'œil du rat.....	142
7.3	Protocole des mesures in-vivo	145
7.3.1	Impédances des implants en diamant stables où la rétine s'est recollée	148
7.4	Mesures et suivi in-vivo des implants.....	149
7.4.1	Analyse de 2 cas particuliers d'implant en diamant.....	149
7.4.1.1	Implant diamant 1C15	149
7.4.1.2	Implant diamant 1C6.....	158
7.4.2	Analyse de 2 cas particuliers d'implant en platine noir	163
7.4.2.1	Implant planaire platine noir W38-2	164
7.4.2.2	Implant 3D en platine noir (2-3D-4)	168
7.5	Récapitulatif.....	171
8.	Conclusion.....	172
Conclusion générale et perspectives		175
Travaux scientifiques		181
Bibliographie		183
Annexes.....		193
1.	Procédé de fabrication des MEA diamant.....	193
2.	Procédé de fabrication des MEA fourchettes en silicium	194
3.	Code Matlab pour l'électrodéposition du platine noir.	195
4.	Procédé de structuration d'une résine négative (KMPPR).....	197
5.	Le polyimide.....	198
6.	Procédé de fabrication des implants rétiens planaire en platine ou en or.....	199
7.	Procédé de fabrication des implants planaires en diamant.....	201
8.	Procédé de fabrication d'implants rétiens tridimensionnels avec des électrodes en métal.	203
9.	Le parylène	204

Lexique

- ARDE : Aspect Ratio Depending Etching ou gravure dépendante du facteur d'aspect
- BCI/BMI : Brain Computer Interface / Brain Machine Interface
- CEA : Commissariat à l'Energie Atomique
- CPG : Central Pattern Generator ou centres générateurs de rythme
- DRIE: Deep Reactive Ion Etching ou Gravure ionique réactive profonde
- EIS: Electrochemical Impedance Spectroscopy ou spectroscopie d'impédance électrochimique
- GDRIE: Glass Deep Reactive Ion Etching ou Gravure ionique réactive profonde du verre
- HF : HydroFluoric acid ou acide fluorhydrique
- IDV : Institut De la Vision
- IMS : Intégration du Matériau au Système
- LFP : Local Field Potential ou potentiel de champ local
- MEA: Micro-Electrode Arrays ou matrice de micro-électrodes
- MEB : Microscope Electronique à Balayage
- MO : Microscope Optique
- OCT : Optical Coherence Tomography ou tomographie optique cohérente
- PA : potentiel d'action ou spike (en anglais)
- PECVD : Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition ou dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma
- PI : polyimide
- PCB : Printed Circuit Board (circuit imprimé)
- RIE: Reactive Ion Etching ou Gravure ionique réactive
- SOG : Silicon-On-Glass
- SOI : Silicon-On-Insulator ou silicium sur isolant
- UV : Ultra-Violet

Introduction générale

Les interfaces neuro-électroniques telles que les MEA (Micro-Electrode Arrays ou matrice de micro-électrodes) se sont beaucoup développées particulièrement pour des applications en neuroprothèse qui améliorent une situation de handicap et offrent un certain confort et une meilleure qualité de vie. Des progrès significatifs ont été réalisés dans le développement de prothèses neurales par les ingénieurs biomédicaux et les neuroscientifiques qui, à travers le monde, continuent d'améliorer le design et la réalisation de dispositifs existant et de développer de nouveaux dispositifs de prothèses et des interfaces cerveau-machine (BMI ou BCI). On peut citer quelques dispositifs prosthétiques sensoriels: implants visuels [1], implants cochléaires [2], implants mésencéphale auditif, stimulateur de moelle épinière [3]; et également des dispositifs prosthétiques moteurs: stimulation cérébrale profonde [4], contrôle du cerveau et interface de perception, électro-stimulation cardiaque [5]. Les avancées conjointes en ingénierie biomédicale, technologies de microfabrication et neurosciences ont donc ainsi conduit à ces nombreux développements de nouvelles interfaces bio-électronique.

Les travaux de développement et de fabrication de MEA à l'ESIEE reposent sur un savoir-faire acquis depuis plusieurs années. En collaboration avec l'Institut de la Vision (IDV) de Paris, l'Institut des Neurosciences Cognitives et Intégrative d'Aquitaine (INICIA), le laboratoire d'Intégration du Matériau au Système (IMS) de Bordeaux et le CEA LCD (Laboratoire Capteur Diamant) de Saclay, nous travaillons sur différents projets (ANR : HYRENE, européen : NEUROCARE, ITMO¹ : IMPLANT) pour concevoir et fabriquer de meilleures interfaces pour l'enregistrement et la stimulation électrique de cellules électrogéniques, c'est-à-dire de cellules ayant la capacité de produire une activité électrique, telles que la rétine, les nerfs.

Cette thèse, transversale par rapport à ces différents projets, aura pour objectif de concevoir, fabriquer et caractériser plusieurs types de matrices de micro-électrodes (MEA) rigides ou souples suivant les applications visées in-vitro et in-vivo. Elle s'intéressera tout particulièrement à deux types d'applications à des fins de réhabilitation fonctionnelle : la

¹ Institut Thématique Multi-Organismes

réhabilitation motrice pour permettre aux personnes paralysées de retrouver leurs propres fonctions motrices et la réhabilitation sensorielle pour permettre aux personnes malvoyantes de recouvrer la vue à travers le développement respectif de MEA tridimensionnelles de type fourchette et d'implants rétiniens souples.

Ces MEA qui assurent l'interface entre le système biologique et le dispositif électronique, sont utilisées pour la conversion des réponses biologiques telles que l'acquisition et la stimulation de signaux neuronaux. Selon les applications, les contraintes seront différentes : dans le cas des implants rétiniens, il s'agira de fabriquer des électrodes sur des supports souples qui permettront l'enregistrement et l'activation indépendante des neurones tandis que pour les MEA rigides de type fourchette, les électrodes devront pénétrer les tissus et enregistrer et stimuler des neurones se situant dans différentes épaisseurs du tissu.

Une partie importante du travail consistera à mettre en place, stabiliser et optimiser des procédés de fabrication et de caractérisation des MEA adaptées à chacune des applications envisagées. Les différents procédés développés seront décrits dans ce rapport.

Et enfin, la partie finale de ce travail sera de tester in-vitro les MEA rigides et in-vivo les MEA souples (implants rétiniens) fabriquées au cours de cette thèse, où l'évolution de ces dernières dans l'œil de rat pourra être suivie durant toute la durée de l'implantation.

Ces travaux se diviseront avant une conclusion générale selon les 4 chapitres suivants:

Chapitre 1 :

Interfaces neuro-électroniques où un état de l'art des différentes MEA sera présenté.

Chapitre 2 :

Développement, réalisation et caractérisations électrochimiques de MEA rigides

Chapitre 3 :

Développement, réalisation et caractérisations électrochimiques de MEA souples

Chapitre 4 :

Expériences biologiques avec les différents types de MEA fabriquées

Chapitre 1 : Interfaces neuro-électroniques

Une interface est une limite commune à deux systèmes permettant des échanges entre ceux-ci. Ainsi, une interface neuro-électronique, telle qu'une MEA (Micro-Electrode Array), est un dispositif permettant à un circuit électronique d'échanger, d'interagir avec des neurones. Cette communication peut être suivant le besoin, unidirectionnelle ou bidirectionnelle, c'est-à-dire que des stimulations électriques et/ou des détections de signaux neuronaux peuvent être réalisées par des MEA. Ces dernières se présentent sous différentes formes, rigides ou souples et planaires ou tridimensionnelles, et connaissent différentes applications in-vitro et in-vivo. Les MEA non-implantables sont par exemple utilisées dans la recherche en neurophysiologie fondamentale pour le recueil d'informations codantes dans le réseau neuronal et la pharmacologie pour le test de drogues [6]. Elles ont permis le développement ultérieur de MEA implantables employées à des fins de réhabilitation fonctionnelle pour restaurer des fonctions motrices et sensorielles en vue d'améliorer la qualité de vie humaine (Figure 1).

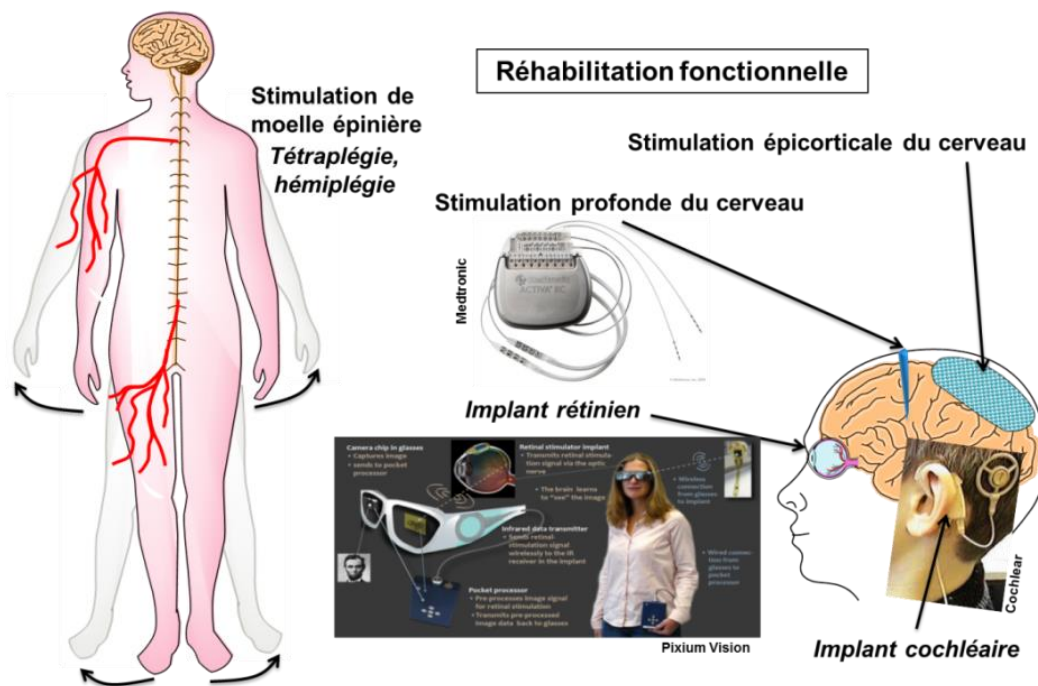


Figure 1 - Exemples de MEA implantables pour des applications in-vivo

Dans ce chapitre nous décrivons la structure et le fonctionnement général d'un neurone à partir desquelles diverses interfaces neuro-électroniques se sont développées. Dans le cadre de notre travail, nous aborderons deux exemples plus spécifiques de neurones, ceux constituant les nerfs de la moelle épinière et ceux présents dans la rétine afin de mieux comprendre l'intérêt de développer de meilleures interfaces neuro-électroniques.

1. Le neurone

1.1 Structure et fonctionnement

Les neurones organisés en réseau sont des cellules excitables électriquement qui reçoivent, traitent et transmettent des informations à travers des signaux électriques et chimiques. Il en existe plus de 200 différents types mais tous possèdent une structure générale se composant de 4 parties : les dendrites, le soma ou corps cellulaire, l'axone et les synapses (Figure 2). Les dendrites établissent des contacts avec les axones d'autres neurones et reçoivent des informations (signaux électrochimiques) provenant de ceux-ci. Ces informations sont traitées par le soma qui peut générer un flux d'information électrique appelé influx nerveux, potentiels d'action (PA) ou spike (en anglais) qui se propage vers l'axone. Ce dernier, entouré d'une gaine isolante de myéline, assure le transfert de l'information aux autres neurones. L'information est enfin transmise aux synapses qui sont des points de communication électrique et chimique vers les autres neurones. [7]

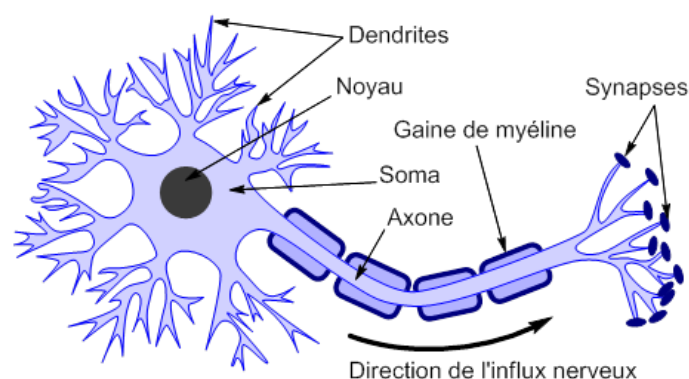


Figure 2 – Structure d'un neurone (ChemBioDraw Ultra 12.0).

Nous nous intéresserons particulièrement à ces informations électriques sous forme de PA qui codent l'information nerveuse et qui sont à l'origine de l'ensemble de nos mouvements, pensées, et sensations.

1.2 Le potentiel d'action

Le potentiel d'action (PA) est généré suite à différentes réactions dans la membrane bi-lipidique du neurone (Figure 3). La stimulation électrique suffisante d'un neurone entraîne un changement brusque du potentiel de repos de sa membrane neuronale (V_m), dû à l'ouverture de ses canaux sodium provoquant un afflux d'ions sodium (Na^+) dans le neurone : c'est la dépolarisation de la membrane. Lorsque la quantité d'ions sodium atteint un seuil d'activation (potentiel E_{Na^+}), **cette dépolarisation, qui est le phénomène à l'origine de l'apparition d'un potentiel d'action, est totale**. Pendant cette période d'environ 1 ms, un deuxième stimulus ne déclencherait pas un second PA. Puis survient la phase de repolarisation de la membrane vers 2 ms qui a pour but de ré-équilibrer progressivement la quantité des charges électriques de la membrane du neurone : les canaux sodiques s'inactivent tandis que les canaux potassiques (K^+) s'ouvrent provoquant un afflux d'ions K^+ hors du neurone. Vers 3 ms, les canaux potassiques sont ouverts et laissent sortir plus d'ions potassium qu'il n'est rentré d'ions sodium dans le neurone ce qui crée une hyperpolarisation de la membrane. Vers 4 ms, tous les canaux sont fermés et le potentiel tend de nouveau vers le potentiel de repos (V_m).

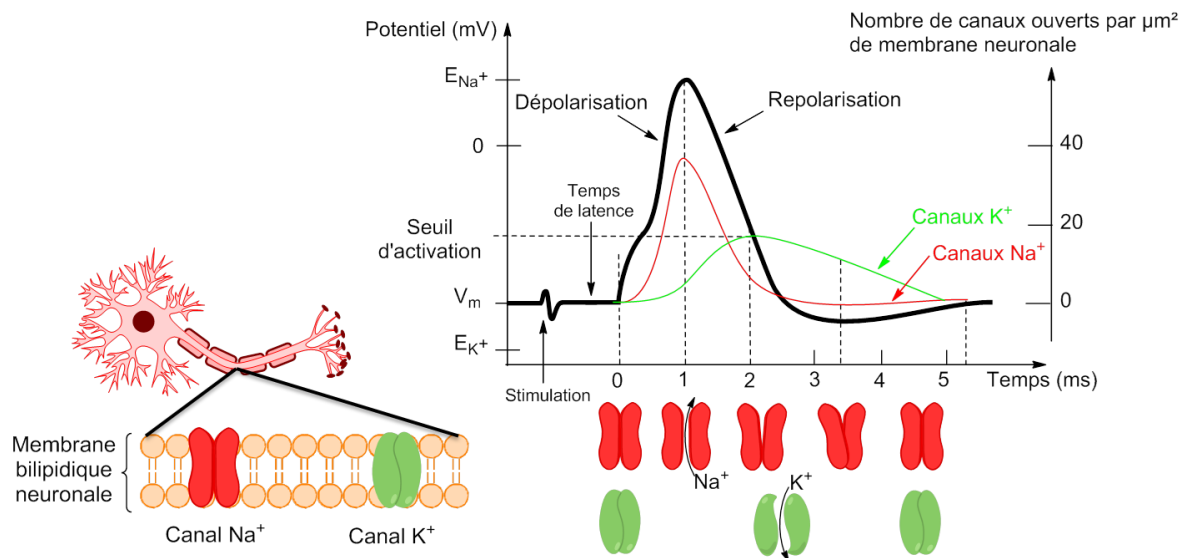


Figure 3 – Etapes engendrant un potentiel d'action : à 0 ms, la membrane est au repos (potentiel V_m); à 1 ms, dépolarisation de la membrane; à 2 ms, repolarisation de la membrane; à 3 ms, hyperpolarisation de la membrane; à 4 ms, le potentiel tend vers V_m .

Le neurone peut ainsi transmettre des informations aux autres neurones sous forme de PA d'amplitude invariable mais dont la fréquence seule varie c'est-à-dire le nombre de PA émis par seconde. L'information est donc codée par la fréquence des PA qui dépend de l'intensité

de la stimulation. Plus cette dernière est élevée (information importante), plus la fréquence augmente [8].

Les PA d'un seul et unique neurone sont difficilement mesurables (excepté avec la technique du patch clamp² qui est invasive pour la cellule [9]) contrairement aux courants électriques appelés potentiels de champ local (LFP ou Local Field Potential) engendrés par les activités électriques d'un groupe de neurones qui eux sont plus facilement détectables.

Ainsi, la compréhension des échanges neuronaux a conduit au développement des interfaces capables à la fois de stimuler et de détecter des signaux neuronaux. Ce sont ces signaux (PA et LFP) qui sont intéressants à mesurer et que l'on veut provoquer et/ou reproduire selon les applications visées. Effectivement, de nombreuses applications découlent des propriétés du neurone notamment dans le domaine de la neuroprothèse et des interfaces cerveau/machine où l'utilisation de MEA vise à restaurer une connexion sensorielle ou motrice rompue lors d'un accident ou d'une maladie. Nous verrons dans la partie suivante quelques exemples de ces MEA existantes dans la littérature (au niveau commercial et recherche) avec leurs applications, les différents matériaux qui les composent et leurs performances lorsque celles-ci sont reportées.

2. Les différentes matrices de micro-électrodes (MEA)

2.1 Généralités

En général, une MEA (Figure 4) est composée d'un substrat qui peut être rigide ou souple sur lequel est déposée une couche de métal qui constituera les électrodes (planaires ou tridimensionnelles), pistes et plots de contacts. Une passivation (ou couche isolante) vient ensuite isoler les pistes du milieu physiologique afin de permettre l'étude (enregistrement/stimulation) d'un tissu biologique.

Au fur et à mesure de ce chapitre, nous verrons qu'en fonction des combinaisons utilisées allant du matériau à la structure planaire ou tridimensionnelle des électrodes et en passant par de nombreuses formes et types des substrats, nous obtiendrons différentes MEA qui seront alors plus destinées à des applications in-vitro ou bien in-vivo.

² Enregistrement des signaux électriques d'une cellule à l'aide d'une micropipette en verre (remplie d'une solution conductrice) servant d'électrode

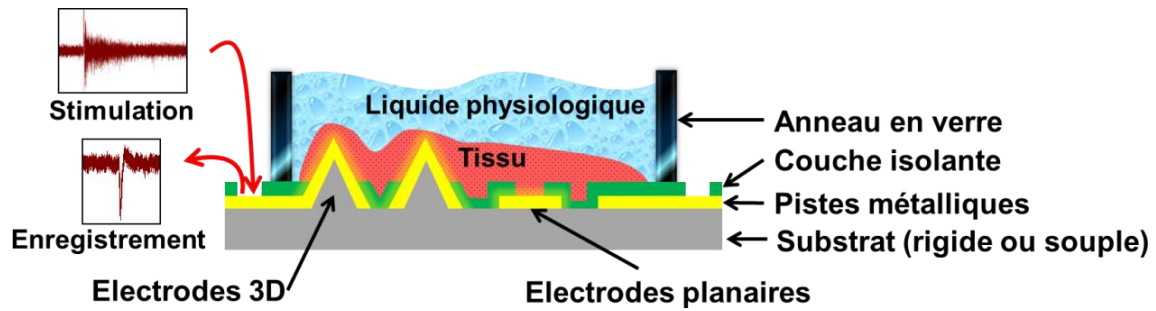


Figure 4 – Principe d'une MEA.

Dans un premier temps, nous nous intéresserons aux MEA planaires rigides qui ont été les premières à se développer, puis aux MEA tridimensionnelles rigides (avec deux géométries principales sous forme de micro-pointes et de fourchette) qui sont apparues après et enfin aux MEA souples qui répondent à certains besoins insatisfaits par les MEA rigides.

2.2 Les MEA planaires rigides

Les MEA planaires rigides ont été les premières à être conçues pour des applications in-vitro afin d'aider à la compréhension des neurones en analysant de façon non-invasive des tissus tels que des explants de rétine, de moelle épinière, des coupes fines de cerveau,... L'intérêt principal de ces MEA est l'étude des activités électriques des réseaux de neurones sur une longue période [10] et sur une large population de neurones contrairement aux techniques de patch clamp [9].

Quelques exemples de ces MEA sont regroupés dans le Tableau 1. On peut remarquer l'utilisation de différents matériaux d'électrodes tels que le platine noir (Pt noir), l'oxyde d'iridium (IrOx), l'oxyde d'indium-étain (ITO), le nitrure de titane (TiN). Le choix du matériau de l'électrode est particulièrement important car il définit la qualité de l'enregistrement où plus le matériau sera rugueux (Pt noir, ITO, TiN), meilleur sera l'enregistrement ; mais également la qualité de la stimulation où plus la capacité d'accumulation des charges électriques à la surface de l'électrode sera grande, plus il sera possible d'injecter une grande quantité de courant. Ces propriétés en enregistrement et en stimulation de l'électrode sont respectivement liées à son impédance et à sa capacité de double couche que nous aborderons plus en détail dans le prochain chapitre.

Quant aux substrats utilisés, la plupart des MEA sont réalisées sur du verre car il est biocompatible et transparent (idéal pour réaliser des imageries biologiques). De plus, le verre est un isolant électrique contrairement au silicium qui est un semi-conducteur et qui nécessite

une étape supplémentaire pour le rendre isolant afin d'éviter tout courant de fuite par le substrat.

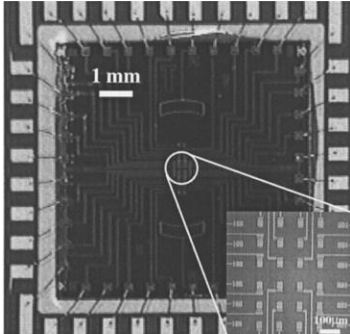
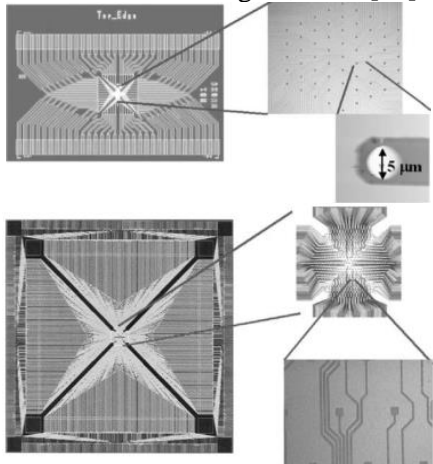
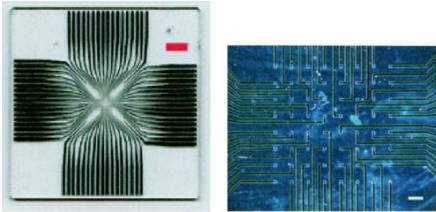
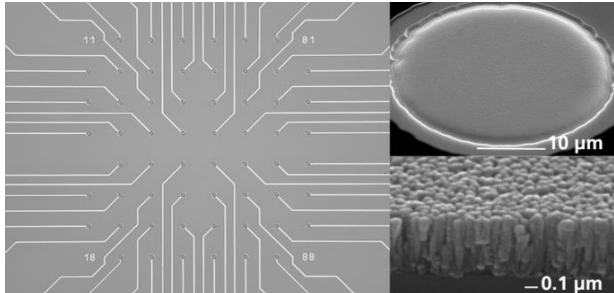
MEA 2D rigides	Application	Référence
<p>Substrat rigide en verre 36 électrodes en IrOx de 10 µm recouvertes de platine noir</p>	<p>Enregistrement et stimulation de moelle épinière de hamster</p>	<p>Université de Stanford, 1997 [11]</p> 
<p>Substrat rigide en verre - 61 électrodes de 5 µm - 519 électrodes en ITO, par e-beam</p>	<p>Enregistrement d'un explant de rétine</p>	<p>Université de Glasgow, 2003 [12]</p> 
<p>Substrat rigide en verre 64 électrodes en Pt noir de 50 µm Impédance : 7 à 10 kΩ</p>	<p>Enregistrement de neurones corticaux d'un embryon de souris</p>	<p>MEA commerciales de Panasonic Medprobe [10], [13]</p> 
<p>Substrat rigide en verre 60 électrodes de 30 µm en TiN</p>	<p>Enregistrement d'une culture d'un réseau neuronal de l'hippocampe</p>	<p>Développé par l'Institut de recherche NMI de Reutlingen, 2003 [6], [14] et commercialisé par MCS</p> 

Tableau 1 – MEA planaires rigides

On note également que la répartition, la densité, la taille et la forme des électrodes sont différentes en fonction des applications biologiques pour être au plus près des cellules étudiées. Cependant, les MEA planaires ne peuvent qu'étudier les neurones présents qu'à la surface du tissu d'où la nécessité de créer des MEA plus invasives avec une structure tridimensionnelle des électrodes et/ou des substrats pour accéder aux neurones situés dans l'épaisseur du tissu.

2.3 Les MEA tridimensionnelles rigides

Les MEA tridimensionnelles rigides peuvent se présenter sous forme de deux géométries différentes, avec micro-pointes (Tableau 2) et avec fourchettes (Tableau 3) pour pénétrer en profondeur les tissus biologiques afin notamment de traverser les tissus morts et/ou certains type de cellules gliales à la surface des tissus biologiques et d'être au plus près des neurones d'intérêt. Elles sont utilisés pour des applications in-vitro et également in-vivo.

Les MEA plus pénétrantes offrent donc la possibilité d'enregistrer et de stimuler les neurones situés à différentes profondeurs dans le tissu biologique. Certaines formes de MEA sont plus complexes telles que celles de l'Université de l'Utah réalisées en 2008, présentent différentes hauteurs importantes d'électrode sur des substrats de formes courbées pour par exemple avec un nerf, le pénétrer tout en épousant sa forme cylindrique. Ces procédés de fabrication pour structurer les électrodes et également le substrat sont plus compliqués que ceux des MEA planaires rigides.

On remarque que dans les publications, la majorité des MEA effectuent des enregistrements de signaux biologiques mais peu stimulent électriquement du tissu biologique.

Il existe d'autres dispositifs d'enregistrement de signaux bio-électriques tels que les transistors [15] que nous n'aborderons pas dans le cadre de cette thèse.

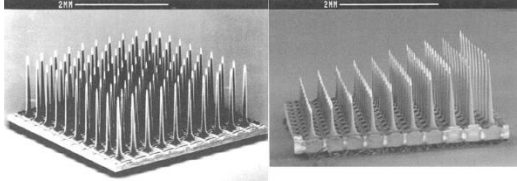
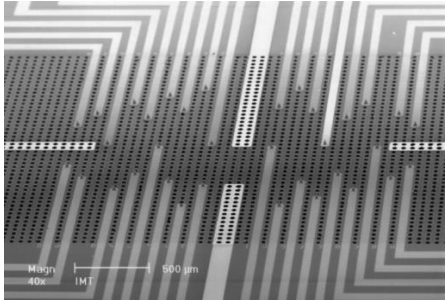
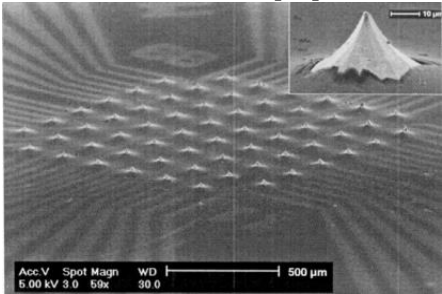
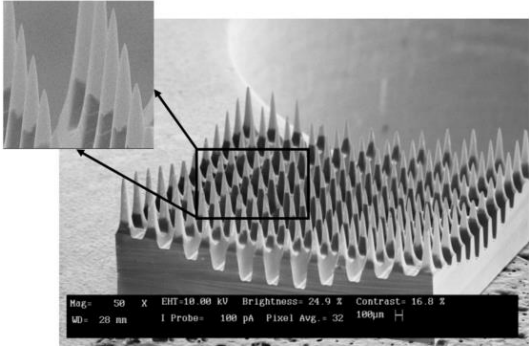
MEA 3D rigides	Application	Référence
<p>Substrat rigide en silicium 100 électrodes en : Platine (impédance ~ 400 kΩ à 1 kHz) ou Oxide d'iridium (impédance ~ 50 kΩ à 1 kHz)</p>	<p>Enregistrement d'un cortex cérébral d'un chat [16]</p>	<p>Développée par l'université de l'Utah (1989), commercialisée par Blackrock microsystems, 2008 [17]</p> 
<p>Substrat rigide en silicium 34 électrodes tridimensionnelles de 47 μm de hauteur dont 15 μm des pointes en platine (270 μm^2) sont exposés Impédance : Module : 470 ± 23 kΩ Phase : $-83 \pm 0.5^\circ$</p>	<p>Enregistrement d'un réseau neuronal de l'hippocampe</p>	<p>Université de Neuchâtel, 1999 [18]</p> 
<p>Substrat rigide en silicium 60 électrodes tridimensionnelles de 60 μm de hauteur dont 40 μm des pointes en platine sont exposés</p>	<p>Enregistrement d'un réseau neuronal de l'hippocampe</p>	<p>EPFL, 2002 [19]</p> 
<p>Substrat rigide en silicium 144 électrodes en iridium de différentes hauteurs comprises entre 0,15 mm et 1,5 mm dont 15 à 5 μm des pointes sont exposées</p>	<p>Prévue pour les prothèses rétiniennes et neuronales mais pas encore testée</p>	<p>Université de l'Utah, 2008 [20]</p> 

Tableau 2 – MEA tridimensionnelles rigides

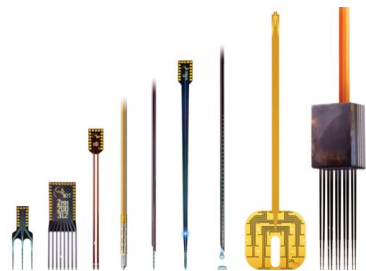
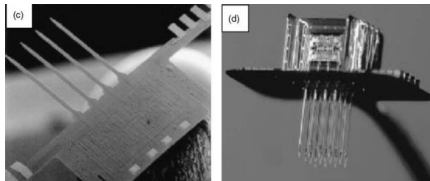
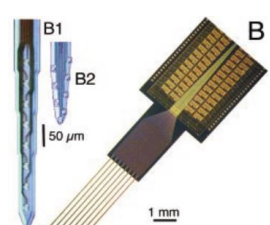
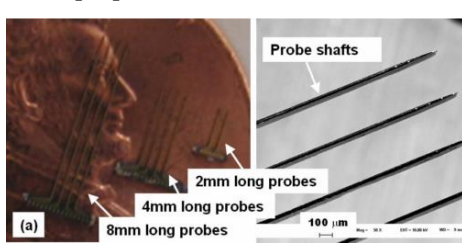
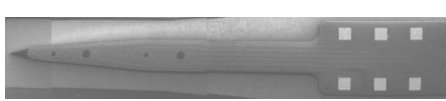
MEA fourchette	Application	Référence
Substrat en silicium ou polyimide Iridium, platine ou or 8 à 64 électrodes	Enregistrement/Stimulation in-vitro et in-vivo	Neuronexus [21] 
Substrat en silicium Fourchette de 4 dents d'électrodes en Iridium Impédance d'une électrode de $9 \times 9 \mu\text{m}^2$: 1-2 M Ω	Enregistrement in-vivo du cortex auditif d'un porc	Agilent Technologies, 2001 [22]  Les fourchettes peuvent être montées en matrice de 4x4
Substrat en silicium 64 électrodes en iridium	Enregistrement in-vivo de l'hippocampe d'un rat	Université du New Jersey et du Michigan, 2003 [23] 
Substrat en silicium 4 dents de 4 électrodes en platine 10 μm de diamètre Impédance : 1,5 M Ω à 1kHz	Enregistrement du cortex d'un rat	Institut de technologie de Californie, 2005 [24] 
Substrat en diamant intrinsèque 1 dent de 6 électrodes en diamant dopé de 5 à 150 μm de diamètre Impédance d'une électrode de 30 μm de diamètre: 70 k Ω à 1kHz	Enregistrement in-vivo du cortex auditif d'un porc	Université du Michigan et Hong Kong Applied Science and Technology Research Institute Company Limited, 2011 [25] 

Tableau 3 – MEA pénétrantes de type fourchette

2.3.1 Contexte de la recherche sur les MEA rigides

Il y a plus de 9,7 millions d'handicapés moteurs en France [26] et actuellement il existe des moyens pour améliorer l'autonomie des personnes paralysées (tétraplégiques³, paraplégiques⁴ et hémiplegiques⁵) tels que les outils d'assistance (cane, béquille, fauteuil roulant,...) et l'aide des interfaces cerveau-machine. De nombreuses équipes de recherches, notamment l'Université de Brown travaille sur ces interfaces cerveau-machine qui enregistrent les activités électriques du cerveau associées au mouvement et les envoient vers un ordinateur qui les traduit et les intègre pour contrôler une variété de dispositifs d'assistance (bras robotisé, une prothèse, ...). Le concept pour articuler un bras robotisé est représenté en Figure 5. La plus célèbre des interfaces est la MEA tridimensionnelle rigide développée par l'Université de l'Utah qu'on a vu précédemment (Tableau 2). Ce type de MEA est invasif car il pénètre dans la masse cérébrale ce qui pose certaines questions comme son fonctionnement sur le long terme dans le cerveau, les risques liés aux procédures de chirurgies, son positionnement au niveau du cortex moteur du cerveau, etc...

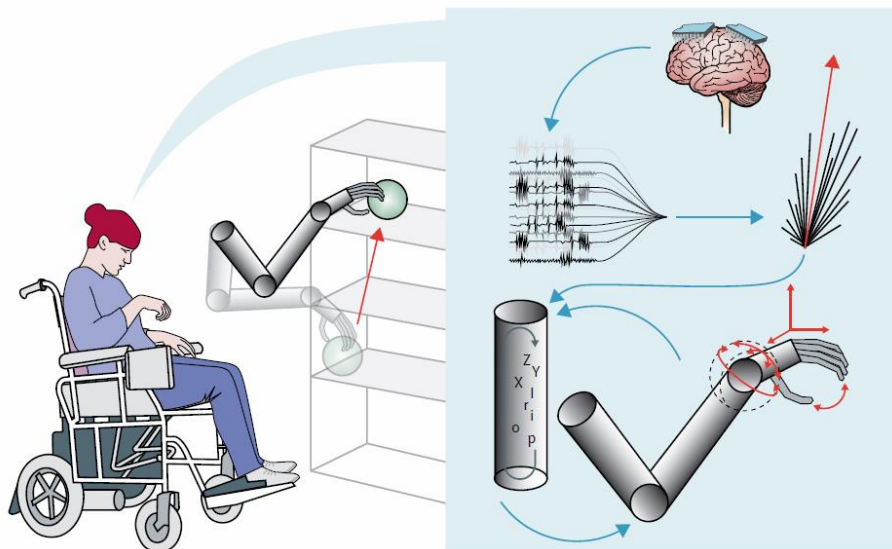


Figure 5 - Interface cerveau-machine [27]

Une autre approche pour améliorer l'autonomie de ces personnes handicapées est abordée dans le cadre du projet de recherche HYRENE (HYbridation de REseaux de Neurones), ANR Blanc (2011-2015). Ce projet a pour ambition à l'aide de MEA, d'enregistrer et de stimuler les réseaux de neurones responsables de la locomotion en vue de connecter un réseau artificiel

³ Personne qui souffre de la paralysie des quatre membres

⁴ Personne atteinte de paralysie des deux membres inférieurs

⁵ Personne qui souffre d'une paralysie de la moitié du corps

de neurones avec des neurones vivants, ce qui permettra à ces personnes à terme de retrouver leurs propres fonctions et s'affranchir des outils ou des dispositifs d'assistance pour interagir directement avec leur environnement. Ces réseaux de neurones responsables de la locomotion appelés les centres générateurs de rythme ou les CPG (Central Pattern Generator) sont localisés dans des segments précis de la moelle épinière et peuvent fonctionner de manière autonome ou être commandés par le cortex moteur. En temps normal, les CPG intègrent les signaux de commande provenant du cerveau ce qui induit la locomotion. Chez les humains, les CPG sont situés dans la partie lombaire de la moelle épinière. Dans le cas d'une lésion au-dessus de cette dernière, les CPG sont intacts mais ne reçoivent plus de commande provenant du cerveau, ce qui entraîne la paralysie [28]. En contrôlant dynamiquement les CPG en leur appliquant des impulsions de stimulation électrique, il est possible de recréer les mouvements rythmiques impliqués dans la locomotion.

Ainsi dans ce projet, des zones de la locomotion ont été choisies pour démontrer la faisabilité de connecter un système vivant/artificiel en vue de réhabilitation. Ces zones sont situées au niveau des racines ventrales (motrices, situées en avant de la colonne). Mais ces dernières se réunissent avec les racines dorsales (sensitives, située en arrière de la colonne vertébrale) pour former les nerfs spinaux (Figure 6).

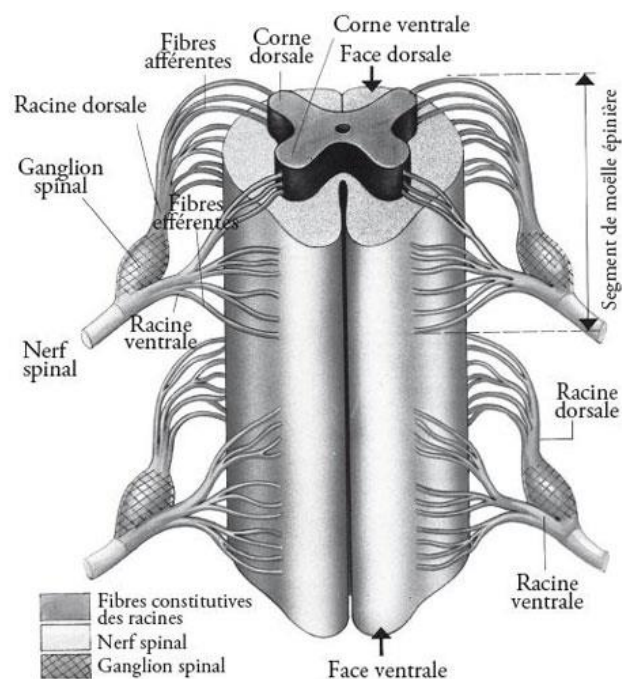


Figure 6 - Anatomie d'une moelle épinière [29].

Dans le cadre de ce projet, la forme des MEA en fourchette a été développée et conçue de façon à pénétrer ces différentes épaisseurs du tissu de la moelle épinière pour que les électrodes situées le long des dents atteignent les CPG situés au niveau des racines ventrales où elles seront capables d'enregistrer les signaux biologiques mais aussi de stimuler les neurones. La stimulation spatiale sera notamment un paramètre important à contrôler car le problème des MEA en général est leur faible résolution spatiale c'est-à-dire que leur manque de focalisation donne lieu à une stimulation sans distinction et cela risque d'activer des neurones autres que ceux ciblés. Il n'existe pas de fourchette (Tableau 3) permettant de confiner le courant de stimulation. Nous verrons un peu loin que l'ajout d'une masse entourant les électrodes permettra une stimulation plus focale.

Dans un premier temps, les expériences d'enregistrements seront réalisées avec ces MEA sur des moelles épinières de souris âgées de 2 jours où le système nerveux à cette période est rudimentaire pour localiser les CPG (travaux INCIA). Puis dans un second temps, le couplage d'un organe entier (moelle épinière de souris) lésé à un réseau artificiel sera effectué par l'intermédiaire de ces MEA : la MEA en amont de la lésion devra enregistrer correctement les signaux électriques d'intérêt qui seront envoyés vers un réseau de neurones artificiels (réseau conçu par l'IMS). Ce dernier traitera les données et les transmettra vers une MEA située en aval de la lésion qui stimulera précisément les neurones responsables de la locomotion se situant au niveau des racines ventrales (Figure 7).

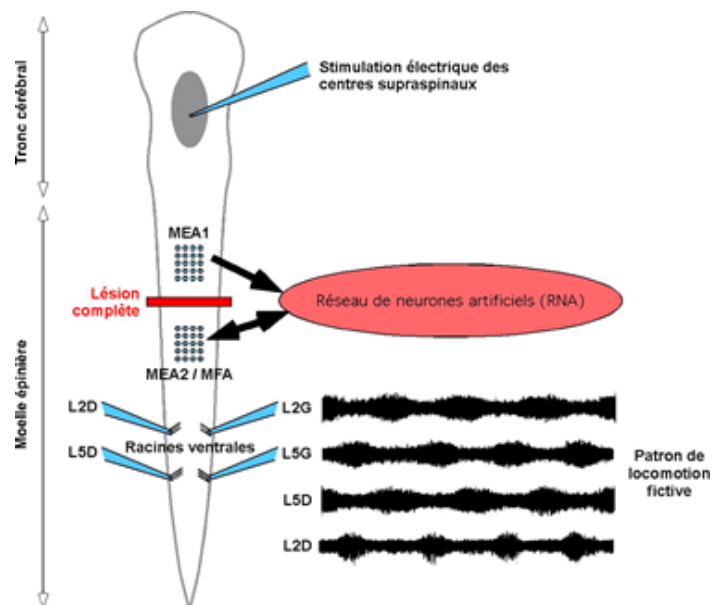


Figure 7 - Protocole d'hybridation (principe) du projet ANR HYRENE

Ce projet permettra d'abord de valider in-vitro l'hybridation d'un réseau de neurones qui donnera lieu ensuite à des expériences in-vivo où le développement de ces interfaces neuroélectroniques "intelligentes" sera réalisé sur des substrats souples pour mieux s'intégrer dans le corps afin de restaurer les fonctions motrices des personnes paralysées.

2.4 Les MEA souples

Contrairement aux MEA rigides, les MEA souples sont plus adaptées à des applications in-vivo où il sera nécessaire de travailler avec des substrats flexibles tels que le polyimide ou le parylène.

Les tissus étant très souples (Figure 8), ils peuvent donc être extrêmement sensibles aux changements des propriétés mécaniques de leur environnement, c'est pourquoi il est impératif de réaliser des MEA qui perturbent au minimum l'environnement des cellules. Les MEA devront en effet se comporter in vivo dans le corps en induisant une réponse inflammatoire minime, se conformer et se déformer en même temps que le tissu neuronal et enfin, fournir une communication à long-terme entre les fibres neuronales et leur électronique. L'encapsulation des MEA dans du polymère tout en exposant les électrodes au milieu biologique serait une solution pour réduire cette réponse inflammatoire contrairement aux MEA rigides en silicium ou verre non encapsulés dont la réponse inflammatoire se manifeste par l'apparition de tissu fibreux enveloppant les sites de stimulation et d'enregistrement des électrodes et empêchant une électrophysiologie fiable à long-terme [30].

Naturel	Neurone	Glie	Fibroblaste	← Compatibilité en microfabrication →	
	0,2-0,4	1-10	100		
Fabriqué par l'Homme	kPa		MPa	GPa	
	0,1-10 Hydrogels		1-10 Elastomères	1-10 GPa Plastiques	>10 GPa Silicium

Figure 8 - Echelle mécanique illustrant le module d'élasticité des matériaux naturels et artificiels [30].

Nous pouvons citer quelques implants souples tels que les implants épicroticaux, les implants "menotte" (cuff electrodes) et "passoire" (sleeves electrodes) pour la stimulation de nerfs et les implants corticaux (Figure 9) mais nous nous attarderons plus sur les implants rétiniens qui constituent une partie importante de ce travail de thèse.

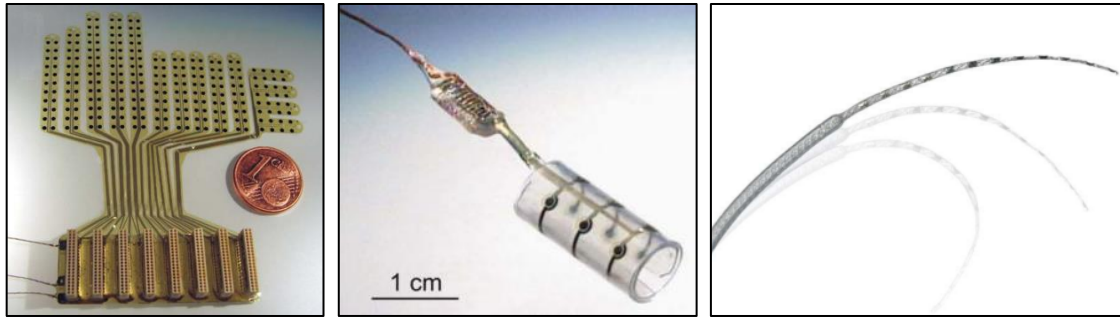


Figure 9 - Exemples d'implants souples: implant épïcortical en polyimide (gauche), implant menotte en PDMS pour les nerfs (milieu) et implant cortical (droite) [31]

2.4.1 Contexte de la recherche sur les MEA souples

L'ESIEE fait partie du projet IMPLANT en collaboration avec l'IDV et le CEA LCD depuis 2010 portant sur la réalisation d'implants rétiniens de nouvelle génération. Ce projet vise à améliorer différentes limitations des implants actuels telles que leur résolution, leur précision de stimulation et la stabilité des interfaces. Ces MEA nécessitent d'être souples pour effectuer des expériences in vivo pour l'enregistrement et la stimulation des rétines de rats P23H possédant les mêmes rétinopathies que chez l'homme.

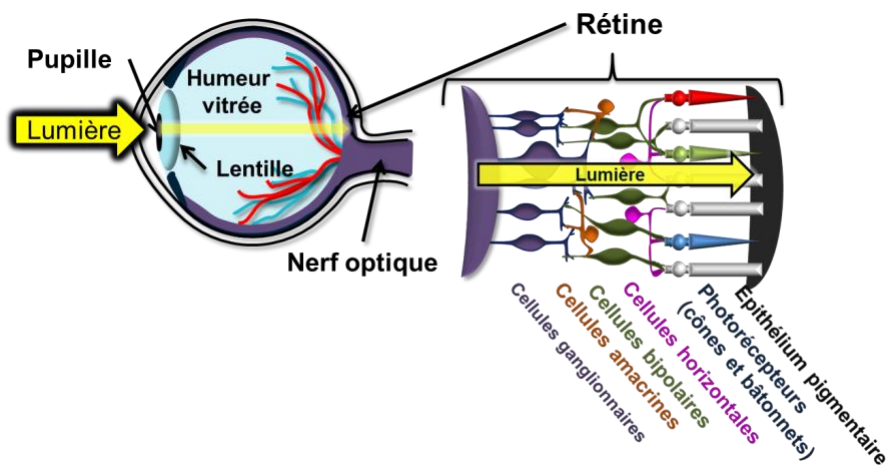


Figure 10 – Vue en coupe de l'œil avec la structure de la rétine

En temps normal, les rayons lumineux entrent à travers la cornée où ils sont concentrés par le cristallin (lentille) vers la zone de la rétine, la fovéa, où la vision est la plus détaillée. Là, les rayons lumineux sont codés sous forme de signaux qui sont envoyés vers le cerveau via le nerf optique (Figure 10). Les fonctions principales de la rétine sont de recevoir, coder et de transmettre les informations visuelles vers le cerveau.

Il y a différents types de cellules de la rétine qui aident à réaliser ces fonctions : les photorécepteurs (cônes et bâtonnets), les cellules horizontales, bipolaires, amacrines et ganglionnaires. La lumière doit traverser successivement toutes les couches de cellules de la rétine pour atteindre les photorécepteurs. Il y a environ 125 millions de photorécepteurs dont les bâtonnets sont les plus nombreux et peuvent fonctionner à basse luminosité pour assurer la vision nocturne (vision en nuances de gris) tandis que les cônes participent à la vision des couleurs et des détails des objets lorsque la luminosité est suffisante et sont par conséquent responsables de la résolution. Ces photorécepteurs vont transformer les informations visuelles en signaux qui sont ensuite transmis à près de 1 million de cellules ganglionnaires par l'intermédiaire de cellules horizontales, bipolaires et amacrines. Les cellules bipolaires apparaissent comme des voies directes de transmission car elles connectent directement les cellules ganglionnaires aux photorécepteurs contrairement aux cellules amacrines et horizontales, considérées comme étant des voies indirectes puisqu'elles relient les cellules bipolaires aux cellules ganglionnaires. Ces neurones intermédiaires ne font pas que transmettre mais jouent aussi un rôle dans la mise en forme de ces signaux que les cellules ganglionnaires interprètent et codent sous forme de PA qui dépendent des propriétés spatio-temporelles de la lumière qui atteint la rétine. Ces PA sont acheminés par leur axone (dont le prolongement constitue le nerf optique) jusqu'au cerveau pour y être analysés. [32], [33]

Il y a un nombre de maladies rétinienne qui attaquent ces cellules, ce qui peut conduire à la cécité. Les plus connues de ces maladies sont la rétinite pigmentaire (RP) et la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA). La rétinite pigmentaire [34] est une maladie **héréditaire** de la rétine qui se caractérise par une perte progressive de la vision périphérique et qui peut conduire à une perte de la vision centrale ; tandis que la dégénérescence liée à l'âge [35], est une maladie **non-héréditaire** progressive de la rétine dont les cellules sensibles à la lumière au centre de la zone de vision (la macula) cessent de fonctionner et éventuellement meurent. Cette dernière maladie est présumée causée par une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux et cela est courant chez les personnes âgées de plus de 60 ans. Il y a donc deux maladies dégénératives de l'œil qui mènent à une perte de la vision car les photorécepteurs (cônes et bâtonnets) cessent de fonctionner correctement. La DMLA atteint plus d'un million de personnes en France alors que la RP touche une personne sur 4 000 [36]. La perception visuelle associée au fond d'œil d'un patient normal, atteint de RP ou de DMLA est représentée sur la Figure 11.

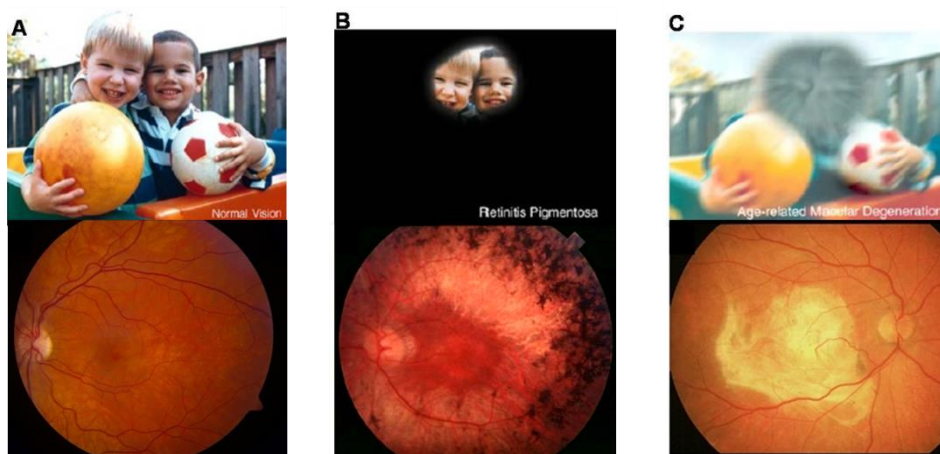


Figure 11 - Perception visuelle et fond d'œil d'un patient normal (A), atteint de Rétinite Pigmentaire (B) et de Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age (C) [37]

Actuellement, il n'existe aucun traitement efficace pour empêcher cette dégénérescence. Cependant, il s'avère qu'aucune de ces maladies rétinienne n'affectent ni les cellules ganglionnaires ni le nerf optique. Ce qui signifie que si les scientifiques peuvent développer des cônes et bâtonnets artificiels ou comme nous allons le voir plus bas, stimuler les cellules ganglionnaires ou bipolaires, l'information peut toujours être envoyée vers le cerveau pour être interprétée. Ainsi, il est possible de recouvrir partiellement la vue notamment avec un implant rétinien.

Un implant rétinien est un dispositif qui pallie donc le fonctionnement des photorécepteurs dégénérescents ou dégénérés. Des composants externes lui sont nécessaires pour fonctionner tels qu'une interface visuelle qui transmet des images externes captées à l'aide d'une caméra puis codées par un processeur (ordinateur) sous forme d'impulsions électriques qui sont ensuite envoyées vers l'implant rétinien contenant une matrice d'électrodes (Figure 12). Cette dernière, placée en position épi ou sous-rétinienne (Figure 13) fonctionne en stimulant les cellules rétiniennes dont les signaux électriques (PA, LFP) sont envoyés vers le nerf optique puis le cerveau pour créer une image virtuelle.

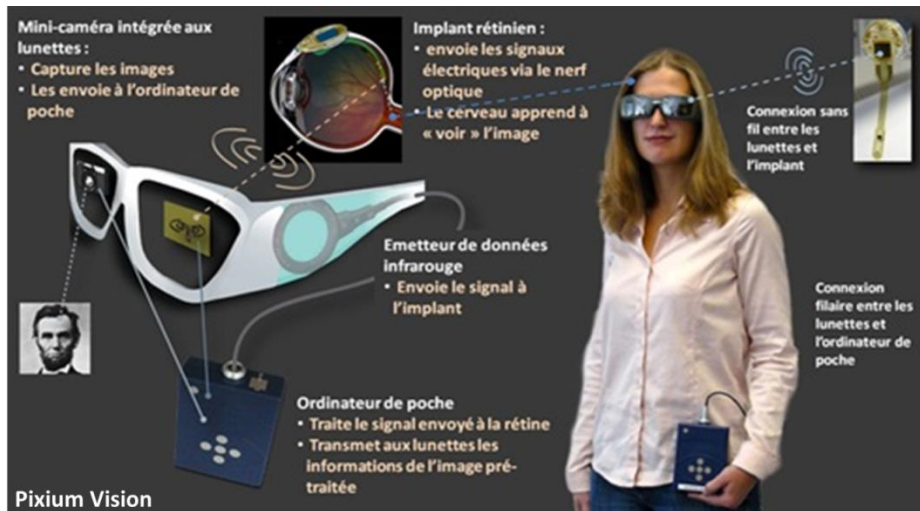


Figure 12 – Composants d’une prothèse électronique rétinienne : stimulateur de la rétine (matrice de microélectrodes), l’interface visuelle (caméra) et le processeur (ordinateur).

Dans le cas d’une stimulation directe de la rétine, il existe deux possibilités de positionnement de l’implant (Figure 13). La première possibilité est la position épi-rétinienne dans laquelle l’implant est posé en surface de la rétine au contact des cellules ganglionnaires transmettant les informations au cortex visuel. La seconde possibilité est la position sous-rétinienne dans laquelle l’implant est posé à l’emplacement initial des photorécepteurs, stimulant les cellules bipolaires actives mais qui nécessite une chirurgie plus délicate (risque de mauvais recollement de la rétine après opération). L’avantage de cette position est que l’information emprunte le chemin naturel du circuit nerveux complexe de la rétine et bénéficie ainsi du codage de la rétine.

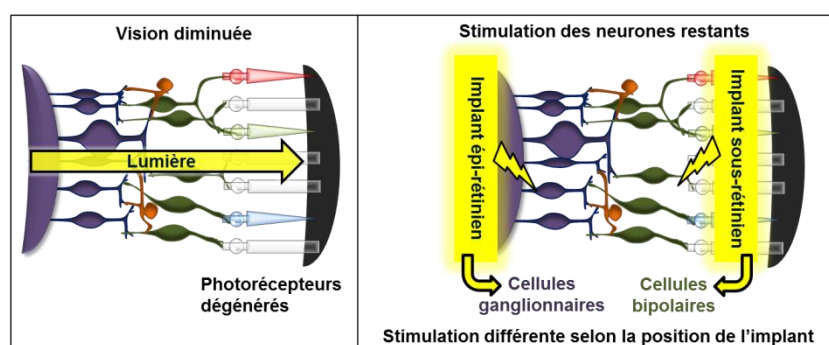


Figure 13 - Principe de la stimulation rétinienne

Les implants offrent une vision partielle artificielle (reconnaissance de formes, objets contrastés,... mais ils ne restaurent pas une vision normale. Plusieurs compagnies fabriquant des implants rétiens sont actuellement en essai clinique sur l’homme: ceux de la première génération d’implants Argus I de Second Sight (Californie) [38], ont démarrés en 2002 [39] et

ceux de la seconde génération, Argus II, ont débuté en 2007. D'autres essais cliniques sont également menés depuis 2005 avec Alpha-IMS de Retina Implant AG (Allemagne) [40] qui comporte 1550 microphotodiodes [41], depuis 2013 avec IRIS1 de Pixium Vision (France) dont les données définitives devraient être disponibles en 2015 [42], [43] et prochainement EPIRET3 de l'Université de Marbourg (Allemagne) [44].

Bien que peu d'informations aient été communiquées, les essais cliniques des implants actuels présentent des résultats assez encourageants [45]. Les performances ainsi que les caractéristiques de ces implants testés cliniquement sont représentées sur la Figure 14. La meilleure acuité visuelle jusqu'à présent est obtenue avec Argus II mais reste cependant très faible (20/1262 [46]), insuffisant encore pour reconnaître un visage. En effet, selon les informations extraites de [47], un nombre important d'électrodes ne signifie pas nécessairement un meilleur niveau d'acuité visuelle. On le constate sur la Figure 14 que MDPA avec 1500 photodiodes ainsi que Epiret3 avec 25 électrodes offrent une moins bonne acuité visuelle que respectivement Argus II avec 60 électrodes et Argus I avec 16 électrodes qui possèdent moins d'électrodes. Nous verrons plus loin dans ce manuscrit qu'il n'y a pas que le nombre d'électrodes qui soit important pour bénéficier d'une bonne acuité visuelle.

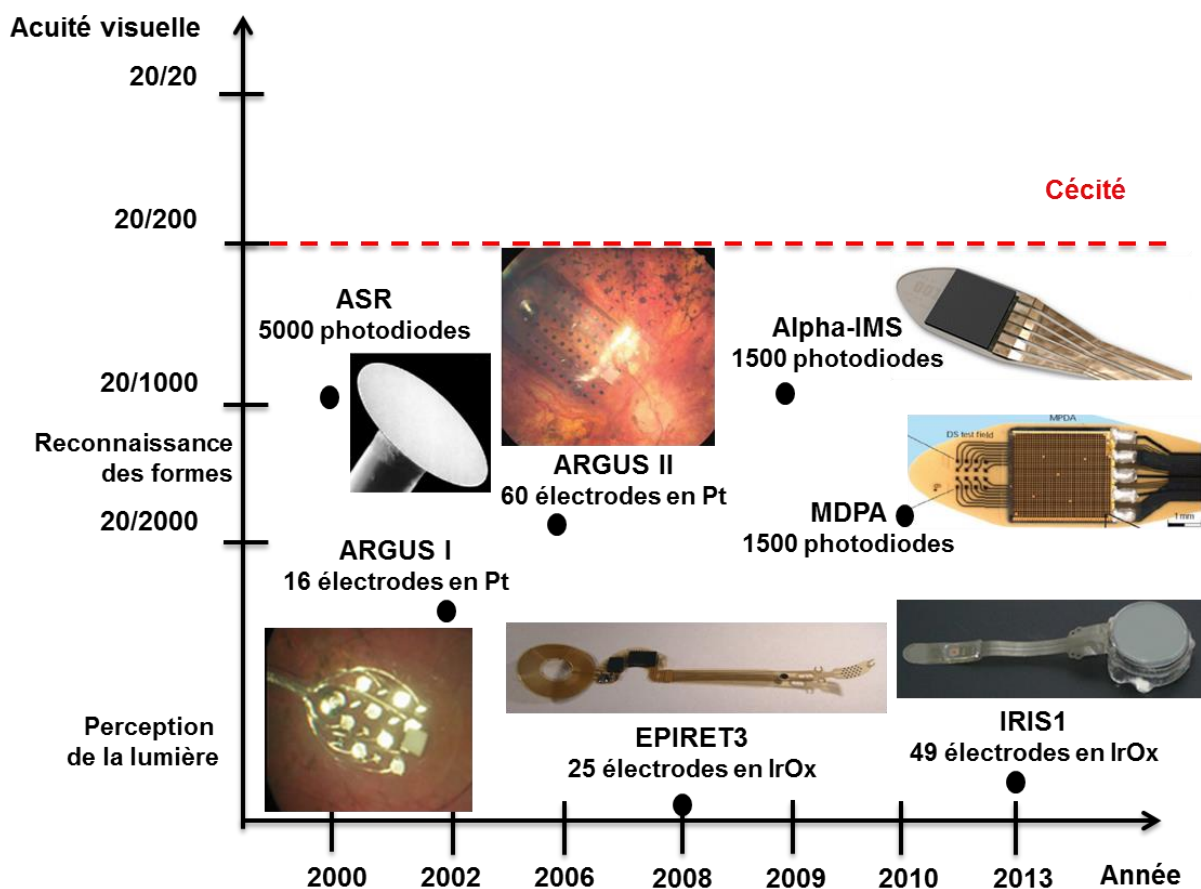


Figure 14 – Performances et caractéristiques des différents implants rétiniens.

3. Positionnement des travaux et contribution

Actuellement, les MEA présentent des performances intéressantes mais peuvent être nettement améliorées.

En **stimulation**, les MEA présentent notamment comme défaut de ne pas stimuler assez localement. Le problème est le fait que ces stimulations peuvent activer des cellules environnantes proches des cellules d'intérêt, introduisant une sorte d'interférence des informations. La stimulation localisée est donc un paramètre particulièrement important pour les implants rétiniens dont dépend la qualité de la vision [48], [49].

En **enregistrement**, elles ont également une capacité restreinte à discriminer les signaux biologiques : elles peuvent enregistrer des champs de potentiels extracellulaires générés par les potentiels d'action d'une centaine à un millier de neurones mais ne peuvent enregistrer le potentiel d'action (signal électrique codant l'information nerveuse) d'une seule cellule [50].

Et enfin, lorsque les MEA sont implantées, elles peuvent engendrer une réponse immunitaire, une inflammation et parfois une destruction locale des tissus. Un travail sur le substrat ainsi que sur les matériaux d'électrodes devra être réalisé pour diminuer ces réactions inflammatoires qui nuisent au bon fonctionnement de ces MEA et qui les rendent moins efficaces en enregistrement et en stimulation. Parallèlement, ces matériaux doivent également assurer aux implants une durée de vie la plus longue possible (supérieure à 10 ans).

Les limitations citées précédemment représentent des défis majeurs pour la réhabilitation fonctionnelle et pour les neuro-prothèses du futur que nous tentons de relever avec nos différents partenaires dans le cadre de plusieurs projets français (ANR) ou européen (FP7). Comme indiqué en introduction, cette thèse contribuera à la réalisation, au développement et à la caractérisation de deux types de MEA : pour des fins de réhabilitation motrice dans le projet HYRENE et de réhabilitation sensorielle dans le projet IMPLANT. Et à travers le projet NEUROCARE, elle permettra de développer et de tester de meilleures interfaces entre les implants électroniques et les tissus biologiques avec notamment des MEA en diamant.

Avec l'INICIA et l'IMS de Bordeaux, sur le projet HYRENE, nous développons de nouvelles technologies de communication hybride entre réseaux de neurones vivants et réseaux de neurones artificiels électroniques où la réussite d'une réhabilitation fonctionnelle va dépendre de la précision de la stimulation et de la qualité d'enregistrement des MEA. Nous réaliserons ainsi des MEA qui possèdent une grille de masse pour améliorer la précision de la

stimulation [51] [52], et qui comportent des électrodes dont le choix du matériau offrirait une meilleure qualité d'enregistrement des signaux.

Pour cette application, on souhaiterait aussi réaliser de l'imagerie cellulaire qui nécessite d'avoir des MEA transparentes en verre. En effet, on souhaiterait utiliser des pigments photoluminescents afin que lorsque des cellules du tissu neuronal sont stimulées électriquement, celles-ci soient colorées ce qui facilite leur observation.

De plus, il est également intéressant de pouvoir explorer les tissus en profondeur afin d'accéder aux neurones se situant dans différentes épaisseurs du tissu. Par exemple, lors de l'étude d'un explant d'organe, les couches de cellules mortes à surface du tissu nuiraient à la fiabilité des enregistrements. Une solution consistera dans ce cas à fabriquer des MEA avec des micro-pointes ou sous forme de fourchettes, et aussi à tester des solutions sur substrat de verre. Cette partie fera l'objet du Chapitre 2.

Avec l'IDV, nous travaillons en commun sur le projet IMPLANT et Neurocare (FP7) visant à créer des implants rétiniens de future génération qui permettront à des patients aveugles atteints de rétinite pigmentaire ou de DMLA de recouvrer partiellement la vue. Basé sur la modélisation numérique de nos collègues de l'IDV [53], notre travail commun sera de concevoir des implants planaires puis tridimensionnels en utilisant une masse pour le retour du courant de l'électrode de stimulation, ce qui permettrait d'obtenir une stimulation plus focale [51], [52] et donc d'atteindre une meilleure résolution [54]. Cette partie fera l'objet du Chapitre 3.

Avec le CEA LCD (Laboratoire Capteur Diamant), sur les projets IMPLANT et NEUROCARE, nous mettons au point des procédés de fabrication en salle blanche qui rend compatible la croissance du **diamant** (conducteur ou non) avec tout type de substrat rigide et souple. Le diamant est un matériau qui possède de nombreuses propriétés intéressantes [55]: il est notamment hautement stable, biocompatible et conducteur (après dopage) [56] ce qui le rend digne d'intérêt pour être utilisé en tant qu'électrode ou support mécanique (substrat). En effet, le diamant offre une interface de qualité avec le système vivant (tissu biologique) puisque le développement des neurones et des cellules gliales (réponse inflammatoire) sur le diamant reste comparable au verre [57].

Nous développerons ici des procédés de MEA originaux compatibles avec des électrodes en diamant dopé qui seront décrits dans le Chapitre 2 et Chapitre 3 selon les applications.

4. Conclusion

La base de la fonction nerveuse d'un neurone est sa capacité à coder l'information à travers des signaux électriques et donc, avec des systèmes électroniques tels que les MEA, il est possible de moduler l'activité de certains neurones qui auront un impact sur la fonction nerveuse. Les électrodes en contact avec des zones spécifiques du système nerveux telles que les régions spécialisées dans différentes activités (motricité, vue,...) peuvent suivant les applications, être enregistrées et/ou stimulées selon les caractéristiques des MEA.

Les performances des MEA vont être influencées par notamment la combinaison de différents éléments (matériaux du substrat, matériaux d'électrode, répartition des électrodes, densité des électrodes, forme des électrodes) qui sont un facteur important pour un bon enregistrement et une stimulation efficace.

Ensuite afin d'être compatible sur le petit animal, toutes les dimensions et les géométries de nos MEA ont donc été déterminées avec les biologistes et validées expérimentalement.

Et enfin, tous les matériaux doivent être biocompatibles afin de ne pas induire de réactions immunitaires dans les tissus et assurer une meilleure communication avec les neurones sur le long terme qui se traduira par une bonne qualité d'enregistrement des signaux neuronaux et/ou une stimulation électrique efficace. Réaliser une interface qui s'intègre bien avec les tissus est un défi technologique car cette interface représentée par les électrodes, une fois implantée, est influencée, modulée par le milieu biologique (réponse inflammatoire, proliférations de cellules gliales, dégradation des neurones, dommage des cellules lors de l'insertion du dispositif, réponse immunitaire) et également par des facteurs propres à l'électrode (changements physiques de l'électrode tels que des dégâts dans la couche isolante, dégradation de l'électrode telle que la corrosion, problèmes d'adhérence, et le changement de la surface active de l'électrode) [58].

Dans les chapitres suivants, nous nous intéresserons donc à la réhabilitation motrice à travers le développement de MEA planaires et de MEA fourchettes et à la réhabilitation sensorielle avec le développement d'implants rétiniens dont les caractéristiques de ces MEA varient en fonction des applications et pour lesquelles nous avons cherché à optimiser chaque type de MEA.

Chapitre 2 : Développement, réalisation et caractérisations électrochimiques de MEA rigides

Dans ce chapitre, nous nous intéressons aux matériaux d'électrodes que nous avons choisi d'utiliser: le diamant dopé et le platine noir, matériaux dont dépendent les performances des MEA. L'intégration de ces matériaux dans les procédés de fabrication des MEA rigides vont également être présentés. Des MEA classiques en platine ont été réalisées en premier lieu afin d'avoir une vue générale mais aussi de comprendre toutes les différentes étapes du procédé de fabrication. Puis, nous avons réalisé des MEA plus originales avec comme matériau d'électrode du diamant dopé au bore et aussi des MEA en forme de fourchette sur des substrats en silicium et en verre où des tests de gravure du verre ont été effectués. Enfin, nous nous intéresserons également à l'étude des propriétés de l'interface électrode/électrolyte de nos dispositifs juste après leur microfabrication à travers des mesures électrochimiques.

1. Interface électrode-électrolyte

Les électrodes sont des interfaces où le système électronique communique avec le tissu biologique. Nous nous intéressons de plus près à cette communication qui s'effectue par le transfert de charge électrique et qui fonctionne de manière bi-directionnelle permettant aussi bien l'envoi d'informations vers le système nerveux en excitant électriquement les neurones que l'enregistrement d'activités électriques de ceux-ci (cf. Figure 15). Par exemple pour stimuler un neurone, on impose à l'électrode un courant ou un potentiel qui, à travers la double couche d'Helmoltz, va provoquer des réactions REDOX en surface (abordé dans ce chapitre plus loin au §1.1) qui déclencheront le PA chez le neurone (vu précédemment au Chapitre 1, §1.2). Tandis qu'en enregistrement, l'électrode détecte les potentiels d'action issus d'un neurone ou les potentiels de champ local issus d'un groupe de neurone. Nous allons voir dans la partie suivante un peu plus en détail les mécanismes et les réactions à l'interface de l'électrode en stimulation ou en enregistrement.

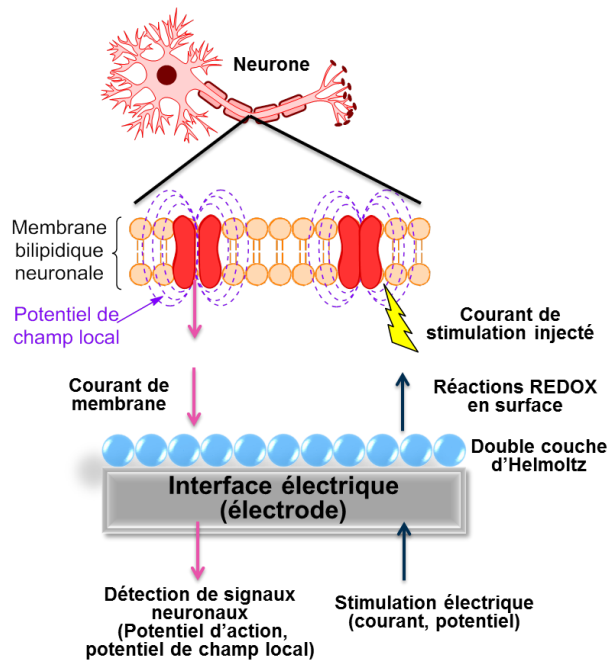


Figure 15 – Interface électrique en milieu biologique.

1.1 Mécanismes de transfert de charge et réactions à l'interface

Lorsqu'une électrode conductrice est placée dans un milieu physiologique ou plus généralement dans un électrolyte, une double couche électrique se forme à l'interface de ces deux phases (Figure 16).

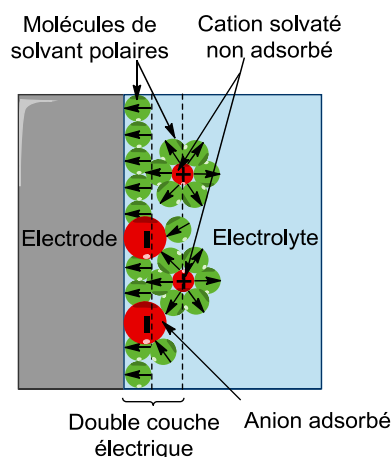


Figure 16 - Double couche électrique

Dans l'électrode conductrice, les charges sont portées par des électrons tandis que dans l'électrolyte, elles sont portées par des ions (par exemple : ions sodium, potassium et chlorure dans un milieu extracellulaire). Dans le milieu, les charges électriques s'accumulent à la

surface de l'électrode et les ions de charge contraire s'arrangent du côté de l'électrolyte. Les interactions entre les ions dans la solution et la surface de l'électrode sont supposées être de nature électrostatique et sont dues au fait que l'électrode garde une densité de charge qui provient soit d'un excès ou d'une déficience d'électrons à la surface de l'électrode. Afin que l'interface reste neutre, la charge contenue dans l'électrode est équilibrée par la redistribution des ions proches de la surface de l'électrode. La couche de Stern est définie comme une couche dense d'ions immobiles fortement adsorbés à la surface de l'électrode. Au-delà de la couche de Stern, il y a la couche de diffusion où les ions sont mobiles sous l'influence de la diffusion et des forces électrostatiques.

Le principal phénomène qui se produit à cette interface électrode/électrolyte lors d'une stimulation est le transfert des porteurs de charges des électrons de l'électrode aux ions de l'électrolyte. Lors d'un enregistrement, c'est la transformation des courants ioniques par les électrodes en signaux électriques [59]. Il existe deux principaux mécanismes de transfert de charge à l'interface électrode/électrolyte (cf. Figure 17) :

- Réaction non-faradique (aucun passage de courant entre l'électrode et l'électrolyte): aucun électron n'est transféré entre l'électrode et l'électrolyte, ce qui implique une redistribution des espèces chimiques chargées dans l'électrolyte. Dans ce cas, l'interface peut être modélisée par une simple capacité électrique appelée capacité de double couche C_{dl} .
- Réaction faradique (passage d'un courant entre l'électrode et l'électrolyte) : principalement pendant une stimulation, les électrons sont transférés entre l'électrode et l'électrolyte, résultant d'une réduction ou d'une oxydation d'espèces chimiques présentes dans l'électrolyte. Contrairement aux réactions non-faradiques (mécanisme capacitif), les réactions faradiques forment des produits de réaction qui ne peuvent redevenir des réactants⁶ en inversant la direction du courant si les produits diffusent loin de l'électrode.

⁶ Corps consommé lors d'une réaction chimique

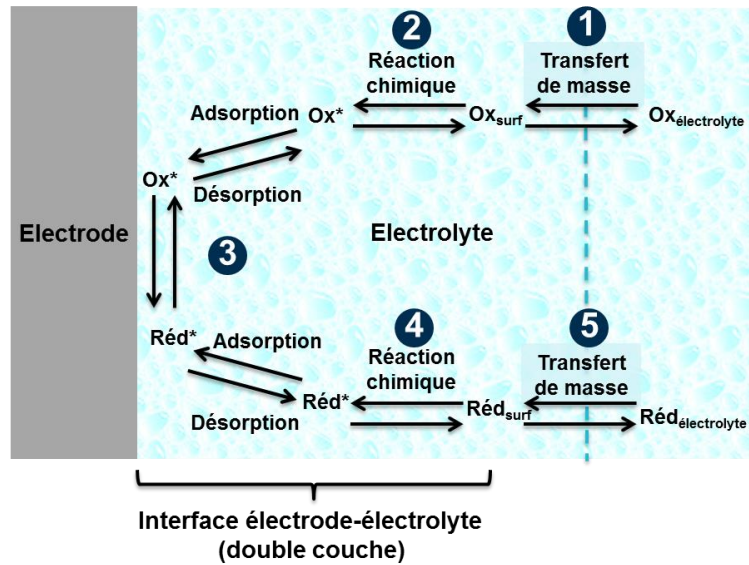


Figure 17 – Réactions électrochimique se produisant à l’interface électrode-électrolyte [60].

Voici quelques exemples de réactions faradiques réversibles et irréversibles pouvant se produire à l’interface d’une électrode en platine et d’un électrolyte:



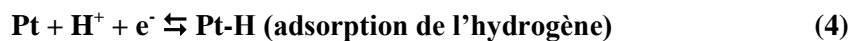
La réaction (1) est une réduction irréversible de l’eau formant de l’hydrogène gazeux et des ions hydroxydes. Cette formation d’hydroxydes augmente le pH de la solution.



Dans la réaction (2), les molécules d’eau sont irréversiblement oxydées, formant de l’oxygène gazeux et des ions hydrogènes qui diminuent le pH.



La réaction (3) est une formation réversible d’une couche d’oxyde sur le platine.



La réaction (4) est une adsorption réversible de l’hydrogène sur la surface du platine, responsable d’un effet capacitif (stockage faradique de surface) du platine. [57]



La réaction (5) est la corrosion de l’électrode de platine dans un milieu contenant du chlorure.

Le degré de réversibilité dépend de la cinétique (vitesse de transfert d'électrons à l'interface) et du phénomène de transport de la matière/transfert de masse (diffusion) [61].

Les réactions faradiques irréversibles (telles que les équations (1), (2) et (5)) entraînent un changement dans le milieu en créant potentiellement des espèces qui endommagent l'électrode ou le tissu biologique. Ainsi, comme principe général, l'objectif d'une stimulation est d'éviter ces réactions faradiques irréversibles.

L'interface où se déroulent ces mécanismes et ces réactions peut être représentée par le circuit en Figure 18. Dans ce circuit, R_s est la résistance de l'électrolyte (qui inclut aussi la résistance des pistes métalliques), $Z_{\text{faradique}}$ et C_{dl} sont des composants qui représentent l'impédance liée à l'interface électrode-électrolyte et la polarisation à cette interface. L'impédance faradique $Z_{\text{faradique}}$ peut être subdivisée en deux parties : R_t , la résistance de transfert de charge et Z_w , l'impédance de diffusion de Warburg.

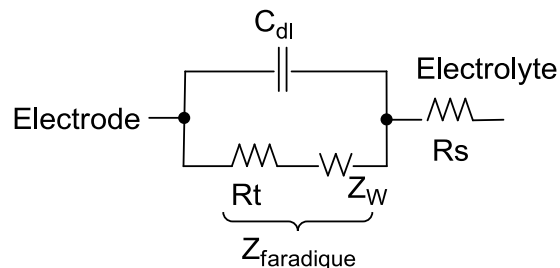


Figure 18 - Modèle d'un circuit électrique pour des mécanismes de transferts de charges à l'interface électrode/électrolyte

Pour évaluer cette interface, des mesures électrochimiques peuvent être réalisées afin de déterminer les caractéristiques de l'électrode telles que sa capacité de double couche, son transfert de charge et la résistance de l'électrolyte.

1.2 Principe des mesures électrochimiques

Le principe général des mesures électrochimiques est d'appliquer une stimulation électrique (une tension ou un courant connu) à l'électrode à étudier et d'observer la tension ou le courant qui en résulte. Pour cela nous allons décrire ci-après le fonctionnement de deux appareils, le potentiostat (Biologic VMP3) et le NanoZ (de Multi Channel Systems).

1.2.1 Mesures électrochimiques avec un potentiostat

Les mesures électrochimiques sont réalisées avec l'aide d'un potentiostat équipé d'un montage à trois électrodes: une électrode de référence Ag/AgCl (Ref), une contre-électrode (CE), et une électrode de travail (W pour "working"). L'électrode de travail est celle où les réactions d'intérêt se produisent et son potentiel est mesuré par rapport à une électrode de référence. Le potentiostat mesure le courant entre l'électrode de travail et l'électrode de référence en appliquant une tension entre l'électrode de travail et la contre-électrode dans une solution d'électrolyte.

Une des mesures électrochimiques est la voltamétrie cyclique ou CV (cyclic voltammetry) où la forme de la tension appliquée est triangulaire (Figure 19).

Elle identifie la présence des réactions électrochimiques et nous fournit des informations sur la réversibilité des réactions, la quantité d'espèces électroactives sur l'électrode, la stabilité de l'électrode et le type de transfert de charge (capacitif, faradique). Pour n'importe quel matériel d'électrode, la courbe CV peut apparaître très différente selon la fréquence de balayage, la solution de mesure et la rugosité de l'électrode, bien que les réactions chimiques restent inchangées [62].

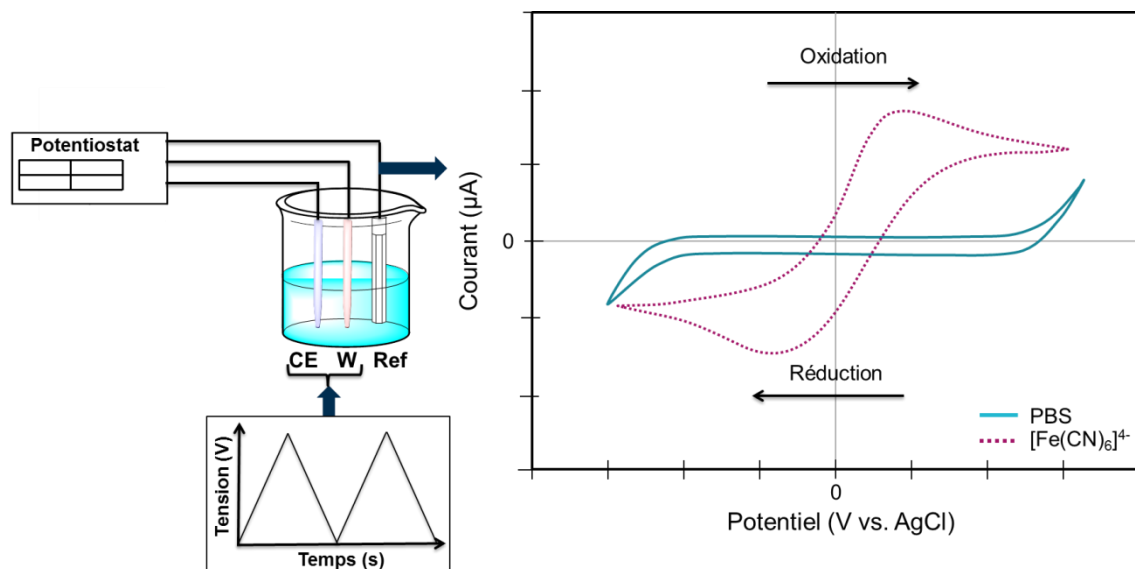


Figure 19 - Montage d'une mesure électrochimique avec un exemple de voltammogramme dans le PBS et dans le ferricyanure de potassium [FeCN₆]⁴⁻

Nous réaliserons nos mesures dans une solution de liquide physiologique similaire au milieu cellulaire, le PBS (Phosphate Buffer Saline) avec un pH 7,2, et également dans une solution de ferry-ferricyanure de potassium [FeCN₆]⁴⁻ qui contient des espèces oxydo-réductives. Les

mesures dans du PBS nous donnent accès à la fenêtre de potentiel du matériau tandis que dans du ferry-ferrocyanure de potassium, elles nous permettent de connaître la réactivité du matériau. La fenêtre de potentiel est importante pour la stabilité des cellules et des tissus en contact avec l'électrode car plus elle est large, plus elle leur évitera d'être exposé à des espèces ioniques ou à une variation de pH issue de réactions d'oxydo-réduction (réactions faradiques irréversibles vues précédemment).

Une autre des mesures électrochimiques est la spectroscopie d'impédance électrochimique ou EIS (Electrochemical Impedance Spectroscopy) dont la tension appliquée est de forme sinusoïdale et dont le balayage en fréquence des électrodes permet le tracé de leur impédance. Ces données permettent d'accéder à la réactivité de l'électrode représentée par la capacité de double couche. Les données EIS sont souvent représentées par des graphes (Figure 20) de type Nyquist qui représentent l'impédance imaginaire qui est indicatrice du caractère capacitif de la cellule, en fonction de l'impédance réelle de la cellule ; et par des graphes de type diagramme de Bode qui représentent l'impédance et la phase en fonction de la fréquence.

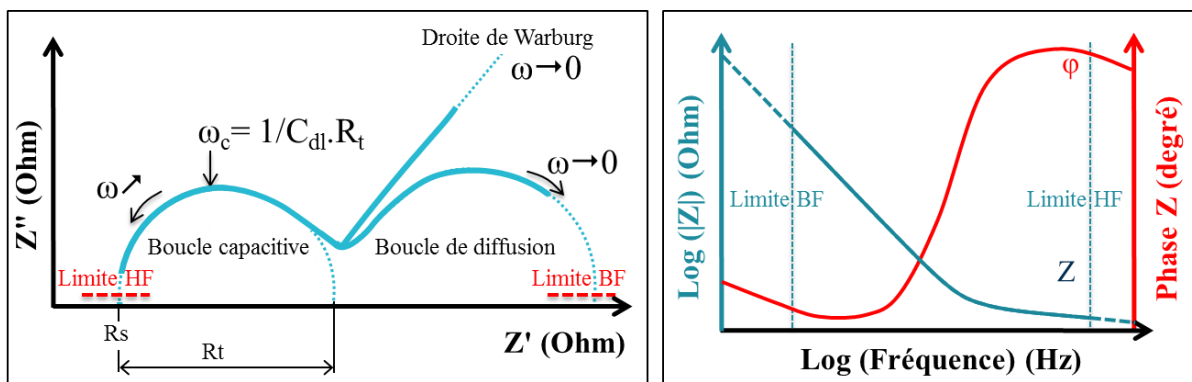


Figure 20 – Graphe de type Nyquist (gauche) et Bode (droite).

Le diagramme de Nyquist fait apparaître deux boucles de variation d'impédance :

- une boucle appelée "boucle capacitive" à haute fréquence, correspondant au couplage capacité interfaciale-résistance de transfert de charge (R_t), caractérisée par la fréquence capacitive f_c (fréquence au sommet de la boucle). Cette boucle permet de déterminer R_t (par détermination du rayon de l'arc de cercle), C_{dl} (à partir de f_c et de R_t) et la résistance de la cellule R_s (par extrapolation de l'arc de cercle jusqu'à l'axe des réels).

- une boucle appelée "boucle de diffusion" à basse fréquence, correspondant à l'intervention prédominante du processus faradique, caractérisée par fréquence f_d . Son amplitude mesurée sur l'axe des réels est fonction à la fois de R_t et des caractéristiques du processus diffusionnel mis en jeu, notamment de l'épaisseur de la couche de diffusion. Cette boucle tend vers une droite inclinée à 45° (droite de Warburg) lorsque la couche de diffusion est suffisamment épaisse.

Si f_c est trop élevée, la boucle capacitive devient inobservable en se situant dans un domaine de fréquence au-dessus de la limite HF expérimentale, tandis que si f_d est trop basse le même phénomène se produit car f_d se situerait au-dessous de la limite BF expérimentale.

Avec les représentations de Bode, le module d'impédance à différentes fréquences peut être lu directement sur le graphe et le comportement capacitif est indiqué par l'augmentation de l'impédance lorsque la fréquence diminue. Dans la région haute fréquence c'est la résistance de l'électrolyte (R_s) entre l'électrode de travail et l'électrode de référence où l'impédance est indépendante de la fréquence. Dans les basses fréquences, l'impédance est attribuée à la résistance de transfert de charge (R_t ou résistance de polarisation) de l'électrode de travail dans l'électrolyte. [63]

L'impédance dans les basses fréquences (10 Hz) fournit une mesure de la capacité des électrodes tandis que dans les hautes fréquences (1 kHz), elle mesure principalement la résistance du tissu en contact avec l'électrode. [64]

Ces mesures d'impédances sont réalisées par un potentiostat mais peuvent l'être aussi avec un autre appareil, le NanoZ.

1.2.2 Mesures électrochimiques avec le NanoZ et ses connecteurs

Le NanoZ de MCS (ou MultiChannelSystem, Reutlingen, Allemagne) (cf. Figure 21) est un appareil qui présente des courants de test très bas permettant de mesurer les impédances de plusieurs sites d'électrodes et de réaliser de la spectroscopie d'impédance électrochimique. De plus, de nombreux modes d'électrodéposition intégrés sont fournis pour une activation de site, un nettoyage et une adaptation d'impédance automatisée.

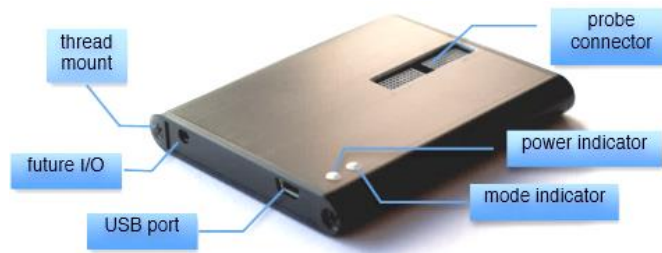


Figure 21 –NanoZ (MCS)

Etant donné que le NanoZ utilise de très petits signaux de test pour mesurer les impédances (courant alternatif de forme sinusoïdale de 4mV crête à crête), il est sensible aux interférences électromagnétiques telles que la fréquence de 50-60 Hz qui correspond aux fréquences du réseau électrique d'alimentation.

Le NanoZ est interfacé avec Matlab, ce qui nous permet de personnaliser les programmes déjà existants ou de créer simplement nos propres programmes. Il peut être employé notamment pour réaliser de l'électrodéposition de métaux tels du platine noir (avec un courant de $\pm 12 \mu\text{A}$), utilisé pour réduire l'impédance des électrodes métalliques (cf. §5).

Des électrodes et des sondes peuvent être connectées directement sur le nanoZ (connecteur MOLC) ou via un connecteur commercial (Figure 22). Le plus souvent, il est nécessaire de concevoir, en collaboration avec les partenaires impliqués, des connectiques spécifiques selon les types de MEA fabriquées (Figure 23 et Figure 24) afin de pouvoir les connecter avec les appareils de mesure et les tester. Faisant actuellement l'objet d'un dépôt de brevet, les images du connecteur pour les MEA fourchettes sont rendues floues volontairement.



Figure 22 – MEA rigide connectée au NanoZ



Figure 23 – PCB de connexion monté avec une MEA fourchette.

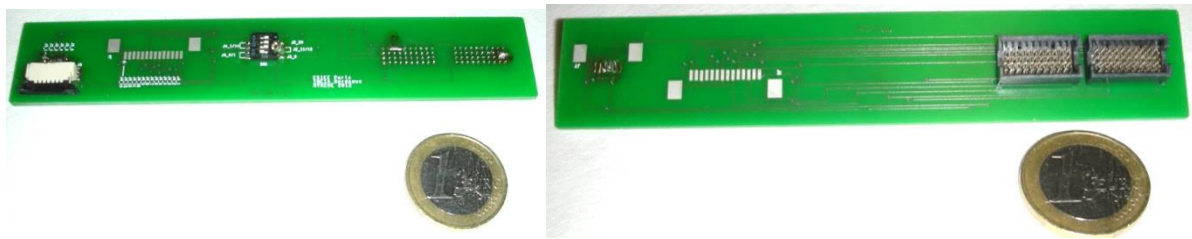


Figure 24 - PCB de connexion (vue recto et verso) pour des implants rétiniens

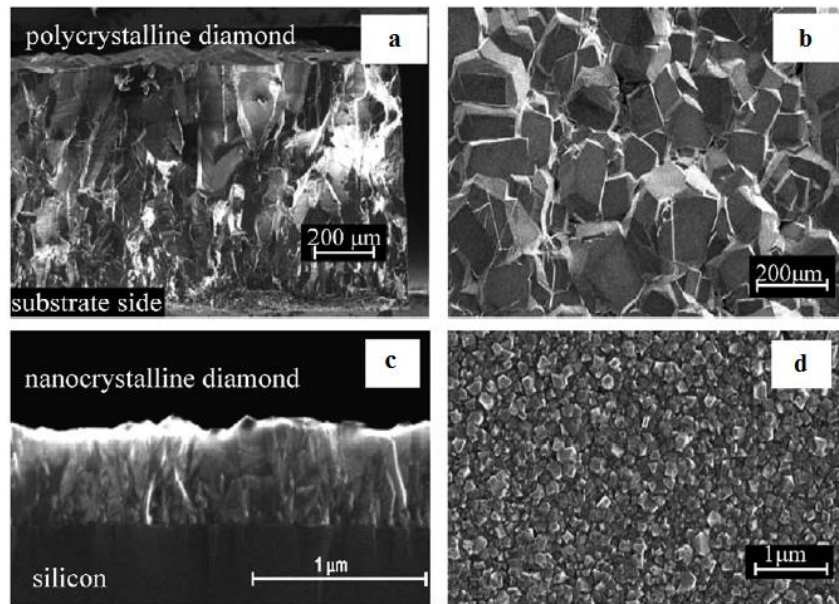
Pour une meilleure qualité en enregistrement et en stimulation, ces matériaux doivent respectivement avoir une **faible impédance** de l'électrode et une **grande capacité de double couche** de l'interface électrode-électrolyte ou électrode-tissu. Les matériaux que nous avons choisi de tester sont le diamant et le platine noir qui présentent de bonnes propriétés et que nous allons décrire dans la partie suivante.

2. Les matériaux d'électrode considérés

2.1 Le diamant

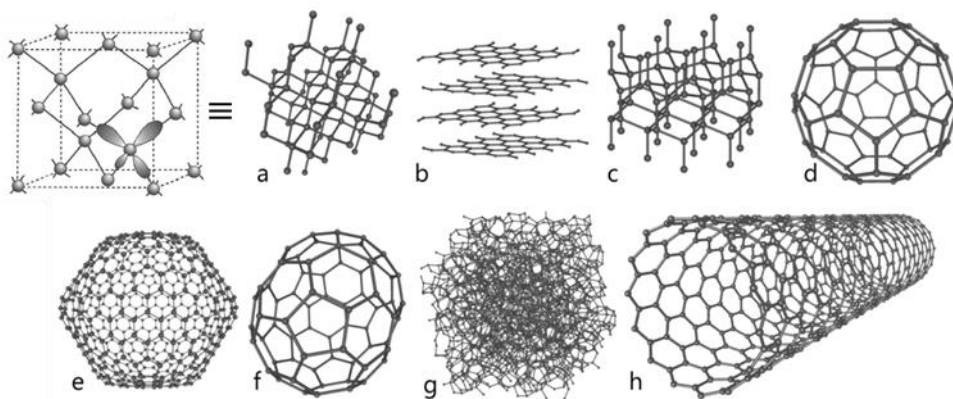
Le diamant (naturel ou synthétique) se présente sous différentes formes:

- monocristalline qui est constituée d'un unique cristal de petite taille de 3 à 4 mm²,
- polycristalline qui est formée de multitudes de cristaux de l'ordre d'une centaine de nanomètre.
- nano-crystalline (NCD) et ultra-nanocristalline (UNCD) qui sont des cristaux respectivement de l'ordre d'une dizaine de nanomètres et inférieure à une dizaine de nanomètres.



**Figure 25 - Images MEB de films diamant [65]:
 polycristallin avec ses grains de structure (a) et sa morphologie de surface (b) ;
 nanocristallin avec ses grains de structure (c) et sa morphologie de surface (d)**

Le diamant est composé d'atomes de carbone qui s'arrangent en une structure cristalline très dense comparée aux nombreuses autres allotropes⁷ carbonés (Figure 26). L'agencement compact de ces atomes de carbone ainsi que les liaisons chimiques établies entre eux sont à l'origine des nombreuses propriétés physico-chimiques du diamant.



**Figure 26 - Formes allotropiques du carbone [66], [67]:
 a) diamant, b) graphite, c) ionsdaléite, d) C60, e) C540, f) C70, g) carbone amorphe, h) nanotube**

⁷ Différents arrangements cristallins d'un même élément chimique

2.1.1 Ses propriétés physico-chimiques

Le diamant est connu pour sa dureté la plus élevée parmi tous les autres matériaux où depuis de nombreuses années, les industriels exploitent sa **propriété mécanique** pour créer des outils de coupe et d'usinage.

Il présente également des **propriétés optiques** : lorsqu'il ne présente pas d'impureté (azote, hydrogène, bore,...), il est transparent de l'ultraviolet au lointain infra-rouge et dans ce cas, est utilisé pour de applications optiques telles que les lentilles [68].

Le diamant possède de bonnes **propriétés thermiques** : c'est un bon conducteur thermique, ce qui en fait un matériau attractif dans les applications en électronique pour dissiper rapidement la chaleur créer par les composants électroniques en fonctionnement.

Le diamant, très stable du fait de sa structure cristalline très compacte, est notamment inerte chimiquement car il ne se corrode pas et résiste aux produits chimiques (acides, bases) et aux rayonnements radioactifs. Cette **propriété chimique** du diamant est utilisée dans des applications en nucléaire (détecteur de radiations) ou médicales (dosimètre en radiothérapie) [69].

Le diamant intrinsèque est un semi-conducteur du fait de sa large bande d'énergie (5,5 eV) qui à température ambiante, agit comme un isolant électrique. Lorsqu'il est dopé par exemple avec du Bore avec une concentration de 10^{16} à 10^{22} atomes.cm⁻³, ses **propriétés électriques** sont modifiées et il devient conducteur avec un comportement quasi-métallique. L'incorporation du bore s'effectue lors de la croissance du diamant, sous forme d'un gaz, le triméthylbore (TMB). Nous pouvons voir que sur la Figure 27, la conductivité du diamant dépend fortement de la concentration en bore. Ces propriétés conductrices seront particulièrement importantes pour nos applications, notamment pour nos microélectrodes. Le procédé de croissance du diamant dopé qui sera utilisé pour nos électrodes a été développé au cours de plusieurs thèses au CEA LCD [70], [71] et permet d'avoir un bon compromis entre la pureté des films de diamant, leur vitesse de croissance et leur homogénéité.

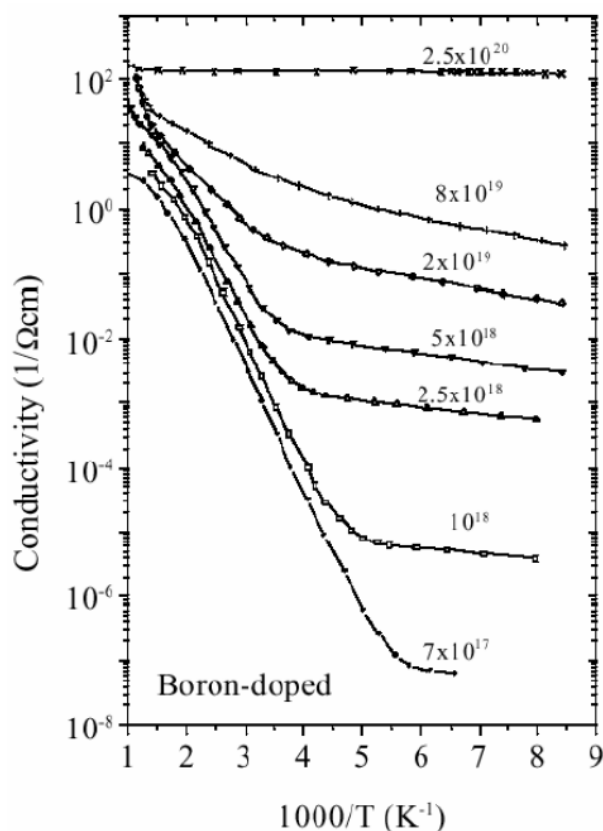


Figure 27 – Conductivité du diamant pour différentes concentrations de dopage au bore [72]

Le développement de ces diamants dopés suscite l'intérêt dans le domaine de l'électronique mais également l'électrochimie. En effet, leurs **propriétés électrochimiques** sont nombreuses : bonne résistance à l'encrassement [52], large fenêtre de potentiel en milieu aqueux et faible courant de fond. Sur la Figure 28 est illustrée une comparaison entre la fenêtre de potentiel de différentes électrodes en diamant à différents niveaux de dopages et celle d'électrodes en or, platine et carbone vitreux.

La fenêtre de potentiel électrochimique du diamant est significativement plus large que les autres matériaux ce qui permet d'explorer des gammes de potentiels auxquels d'autres n'ont pas accès. Cette fenêtre dépend de plusieurs paramètres tels que l'orientation cristalline [73], la qualité du diamant [74], les terminaisons de surface [75] et le taux de dopage. On le constate sur la Figure 28, que plus la concentration de dopage en bore est élevée, plus sa fenêtre de potentiel se réduit mais reste cependant supérieure aux autres matériaux présentés. Quant au courant de fond caractéristique du diamant, il est plus faible que les autres matériaux ce qui tend à améliorer le rapport signal sur bruit [76].

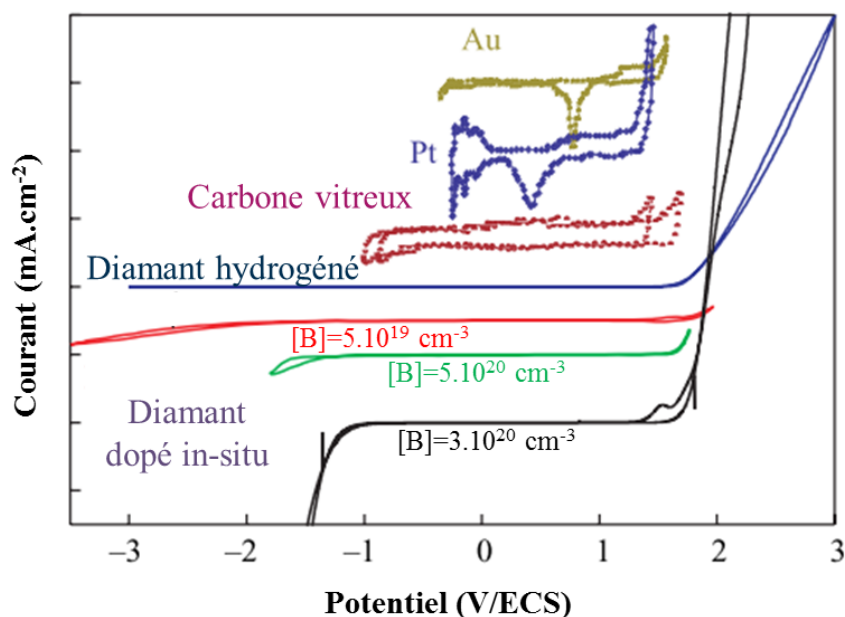


Figure 28 -Fenêtres de potentiel pour l'électrolyse de l'eau de différents matériaux d'électrodes en milieu aqueux. De haut en bas, électrode en or (jaune), en platine (pointillé bleu), en carbone vitreux (magenta) et en diamant avec différents niveaux de dopage au bore : diamant monocristallin intrinsèque hydrogéné (ligne bleue), diamant polycristallin dopé $[B]=5.10^{19} \text{ cm}^{-3}$ (rouge), diamant polycristallin dopé $[B]=5.10^{20} \text{ cm}^{-3}$ (vert), diamant monocristallin dopé $[B]=3.10^{20} \text{ cm}^{-3}$ (noire) [77]

Le diamant présente également une faible adsorption de molécule à sa surface ce qui la rend moins sujette à l'encrassement contrairement aux autres matériaux et par conséquent conserve plus longtemps sa réactivité. Si toutefois les électrodes venaient à s'encrasser, des traitements électrochimiques pour nettoyer les électrodes ont été développés [78]. Ces propriétés sont intéressantes pour des applications d'analyse de composés chimiques et de bio-analyse [65], [77].

Le diamant étant un composé carboné, sa surface peut être fonctionnalisée (greffage d'ADN, d'acides aminés,...) [65] et il est aussi **biocompatible** [57], [79]. La combinaison des propriétés mécaniques et propriétés biocompatibles du diamant permet son utilisation dans le domaine médical pour le recouvrement de prothèse orthopédique, dentaire, cardiovasculaire,... [67]

Toutes ces propriétés, notamment électrique, électrochimique et sa biocompatibilité en font un bon candidat en tant que matériau pour nos électrodes.

2.1.2 Sa synthèse et sa croissance

Il existe deux manières de synthétiser du diamant : par le procédé CVD (Chemical Vapor Deposition) [80] ou en imitant la nature en reproduisant les conditions de formation du diamant par le procédé HPHT (Haute Pression Haute Température) [81]. Le procédé HPHT produit des diamants monocristallins, cependant ce procédé est long et coûteux car pour obtenir des diamants de qualité, il nécessite d'atteindre une pression élevée (environ 75000 atm ou 4 à 6 GPa) et de hautes températures (1100 à 2000°C) pendant 6 semaines. De plus, l'incorporation d'impuretés n'est pas bien maîtrisée contrairement au procédé CVD qui offre la possibilité de le contrôler, ce qui conduit au développement de diamant synthétique (diamant polycristallin) avec les nombreuses propriétés du diamant vues précédemment.

Le diamant ne croît naturellement pas sur des substrats silicium ou verre mais uniquement sur du diamant. Il est donc nécessaire pour amorcer sa croissance, de préparer la surface des substrats en créant des sites de nucléation où le diamant se formera et pourra ensuite croître. Il existe différentes méthodes pour générer ces sites: par rayage mécanique du substrat par polissage de nanoparticules de diamant [82], par sonication du substrat dans un bain de microparticules de diamant [83], par BEN (Bias Enhanced Nucleation) [84], par recouvrement du substrat d'un polymère électrostatiquement chargé puis trempage dans une solution de particules de diamant de charge opposée [85] et par centrifugation d'une solution en suspension de nanoparticules de diamant sur un substrat [86]. Parmi toutes ces techniques, nous ne retiendrons que les deux dernières qui ont été développées par notre partenaire, le CEA, car elle est simple, rapide, reproductible, compatible avec les procédés de salle blanche et assure une meilleure homogénéité de la répartition des sites de nucléation par rapport à la plupart des techniques reportées pour des surfaces planes ou tridimensionnelles.

Ensuite, ces sites de nucléations (nanoparticules de diamant) sont exposés à un mélange de gaz composé de méthane (CH_4) et de dihydrogène (H_2) dans un réacteur (Seki technotron corp. AX6500X) de croissance de diamant MPECVD (Microwave Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition). Ce gaz sous l'effet d'un champ électrique généré par micro-onde, se dissocie en espèces gazeuses ionisées formant des radicaux méthyles et hydrogènes atomiques. Un schéma simplifié du réacteur MPECVD ainsi que les paramètres de croissance des nanoparticules de diamant sont présentés en Figure 29.

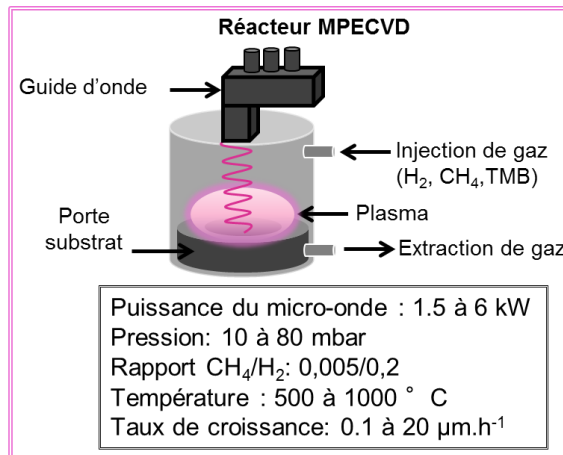


Figure 29 - Réacteur MPECVD

On peut observer les différentes étapes de croissance du film en diamant sur la Figure 30 où la croissance de ces nanoparticules de diamant passe par une étape de nucléation qui est critique car elle crée des germes de diamant (nanoparticules de diamant) sur un substrat (par centrifugation) qui seront à l'origine de la rugosité de surface du diamant et éventuellement de la formation de défauts (pinhole) si la densité de germes est insuffisante [87]. Les germes vont ensuite croître lors de l'étape de coalescence où des atomes de carbone (provenant du méthane) vont venir se lier à la surface des cristaux pour les faire grandir jusqu'à ce que les cristaux se rejoignent et forment un dépôt polycristallin. On peut observer cette structure polycristalline ci-après où la vue en coupe révèle des structures colonnaires.

Nous verrons comment structurer le diamant pour lui donner la forme des électrodes voulue dans la partie sur la fabrication de MEA diamant (§3.3.1).

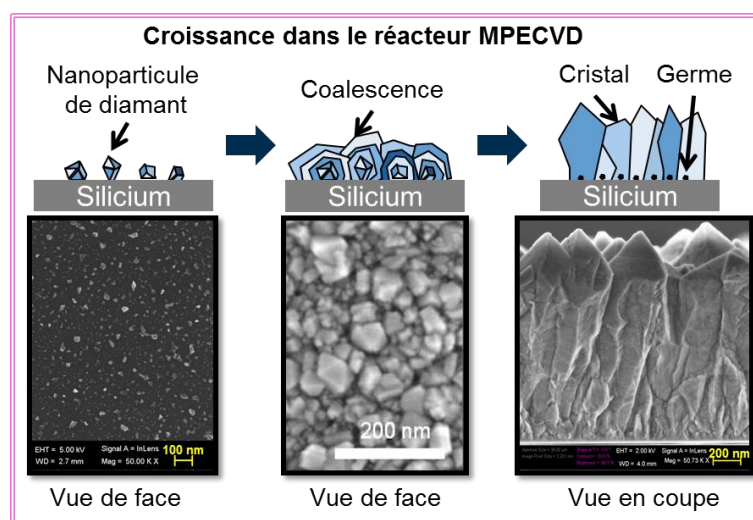


Figure 30 – Différentes étapes de croissance du film de diamant au sein du réacteur MPECVD

2.2 Le platine

Le platine est un métal noble considéré comme un matériau inerte, généralement employé dans les applications en électrochimie [88]. Il existe différentes morphologies de platine selon les techniques employées (Figure 31) pour augmenter la surface de l'électrode afin d'accroître les réactions en contact avec le milieu et accélérer les réactions. L'augmentation de la surface de l'électrode permettra également d'après la formule (6) de réduire le bruit et l'impédance des électrodes ce qui nous intéressera particulièrement en enregistrement:

$$E_{\text{bruit}} = \sqrt{4KT \cdot \text{Re}(Z) \cdot B} \quad (6)$$

E_{bruit} est le bruit thermique, K la constante de Boltzmann, T la température, $\text{Re}(Z)$ la partie réelle de l'impédance et B la bande passante de travail de l'électrode.

Il existe le platine spongieux (gris) qui peut être obtenu par évaporation ou précipitation [89] et le platine noir, par électrodéposition [90] ou par décomposition thermique à 500°C [89].

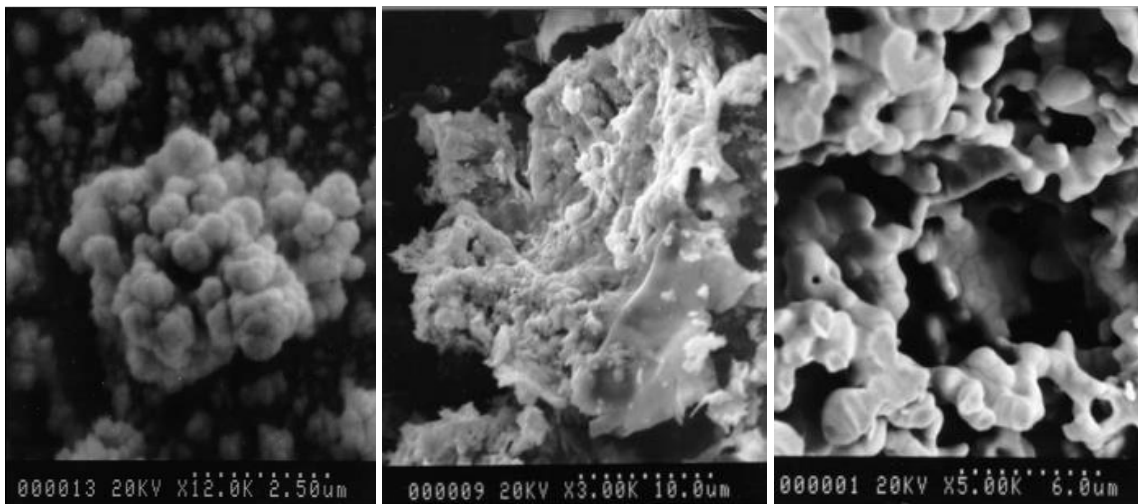


Figure 31 - Morphologies du platine noir obtenu par électrodéposition (gauche), par décomposition thermique (milieu) et du platine spongieux obtenu par évaporation ou précipitation (droite) [89]

Le nom du platine noir vient de sa couleur noire qui est due à sa structure poreuse qui absorbe la lumière et ne la reflète pas. Le dépôt du platine noir est poreux à tous les niveaux, même au plus fort grossissement où des agrégats de forme sphérique (structure en forme de chou-fleur), des fissures et cavités sont apparents.

Nous avons opté pour le platine noir comme matériau d'électrode car il est classiquement utilisé comme matériau de référence dans les MEA commerciales. Le platine noir présente la plus grande porosité afin d'augmenter la surface d'une électrode ce qui diminuera son impédance [91] et par conséquent son niveau de bruit tout en augmentant sa capacité de charge (0,55-1,6 mC/cm²). Sa rugosité ou porosité change selon les conditions d'électrodéposition : température, densité de courant appliquée (potentiel constant [92] ou impulsion de courant [93]), quantité de platine noir déposée, composition de la solution d'électrodéposition et avec ou sans ultrasons. Le platine noir n'est pas résistant à long-terme mais dans la littérature, l'électrodéposition sous ultrasons ou le traitement de la surface en créant une certaine rugosité avant électrodéposition augmenterait son adhérence [89], [94], [95].

Nous avons choisi de réaliser du platine noir par électrodéposition sans ultrasons, technique facile à mettre en œuvre à l'aide de technique électrochimique et du NanoZ et que nous allons décrire ci-après.

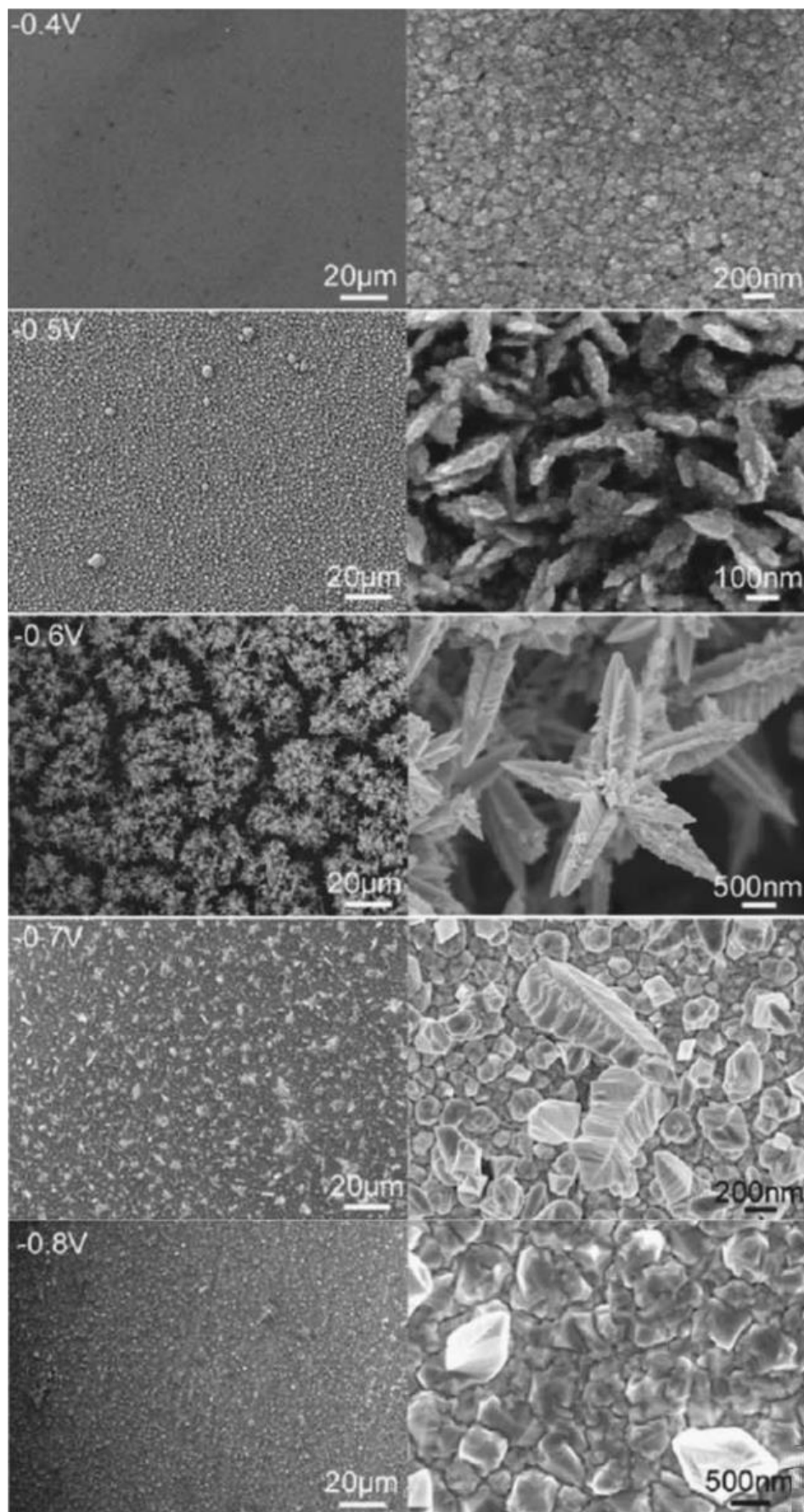


Figure 32 – Vues MEB de film et de morphologies de surface de platine noir électrodéposé avec différentes tensions [92]

2.2.1 Protocole d'électrodéposition du platine noir

La solution pour l'électrodéposition de platine noir est obtenue en dissolvant 2,5mg d'acétate de plomb ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) dans 10ml de PBS à 0.1M et en ajoutant 1,56ml de H_2PtCl_6 (solution aqueuse 8wt-%), tous achetés chez Sigma Aldrich.

Le protocole d'électrodéposition consiste à :

- 1) Mesurer l'impédance de l'électrode dans le PBS et si celle-ci est élevée,
- 2) Electrodeposer l'électrode dans la solution d'électrodéposition à l'aide du NanoZ interfacé à Matlab où nous avons repris le code de notre partenaire INCIA pour électrodeposer le platine noir (cf. annexe p.193).
- 3) Mesurer de nouveau l'impédance de l'électrode

Cette mesure avant et après le dépôt de platine noir permet de quantifier la réduction de l'impédance de l'électrode.

Tous nos dispositifs fabriqués (Pt, Pt noir et diamant) seront caractérisés électrochimiquement par CV et EIS. Nous allons maintenant décrire les procédés de fabrication des différents types de MEA sur lesquels nous avons travaillé.

3. MEA planaires 60 voies

3.1 Design des MEA planaires

En collaboration avec les partenaires concernés (IDV, INCIA), deux designs ont été développés. La taille et la distribution précise des électrodes sont issues d'un compromis entre les capacités de réalisation en salle blanche et les considérations biologiques. Elles permettent de bien s'adapter à la géométrie du tissu étudié en vue d'avoir un meilleur enregistrement et une stimulation efficace des cellules.

La taille de toutes les électrodes fait 80 μm de diamètre mais l'ouverture dans la passivation permet de définir la surface active de l'électrode qui sera en contact avec le milieu physiologique ou biologique. Le premier design possède des électrodes espacées de 300 et 900 μm avec une ouverture de 20 μm , réparties sur une matrice de 4×15 pour s'adapter à la géométrie d'une moelle épinière de souris. Le second quant à lui, a des électrodes espacées de 100 μm avec une ouverture de 34 μm , réparties sur une matrice de 8×8 pour s'adapter à la géométrie d'une rétine de rat. Les deux designs sont représentés sur la Figure 33.

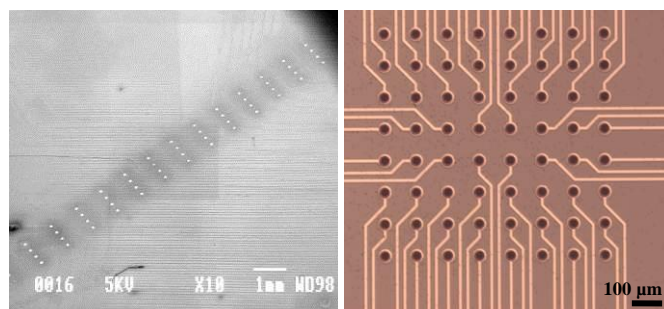


Figure 33 - MEA en diamant : matrice d'électrodes 4×15 (gauche) et matrice d'électrodes 8×8 (droite).

3.2 MEA en platine

La fabrication des MEA en platine (Figure 34) est un procédé classique où des substrats en silicium ou en verre peuvent être utilisés. Sur un substrat en silicium, une couche d'oxyde thermique (SiO_2) est préalablement déposée pour éliminer toute conduction à la surface du substrat. Les substrats sont déshydratés à l'étuve à 250°C pendant 15 min. Cela élimine toute trace d'humidité et améliore l'adhérence des résines sur les substrats. Une photolithographie est réalisée avec une résine photosensible, la Nlof2020 de chez Clariant, pour définir la forme des électrodes ($80\ \mu\text{m}$ de diamètre), pistes et plots de contacts. Ensuite, $50\ \text{nm}$ de titane (Ti) et $150\ \text{nm}$ de platine (Pt) sont déposés par pulvérisation cathodique et le procédé par lift-off⁸ permet de révéler les structures métalliques. Le titane est utilisé ici en tant que couche d'accroche. Puis, une couche de nitrure de silicium (Si_3N_4) de $1\ \mu\text{m}$ est déposée sur le substrat par PECVD (Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition) pour isoler les pistes métalliques du liquide physiologique. Les substrats sont de nouveau déshydratés sur plaques chauffantes à 110°C pendant 15 min avant de réaliser une autre photolithographie avec une résine fine pour définir l'ouverture des électrodes ($20\ \mu\text{m}$ pour la matrice 4×15 et $34\ \mu\text{m}$ pour la matrice 8×8) et des plots de contacts où le nitrure de silicium (Si_3N_4) sera gravé par RIE en plasma d'hexafluorure de soufre (SF_6). Finalement, la résine utilisée pour graver sélectivement la couche de nitrure est enlevée et les MEA sont séparées par une découpe avec une lame de scie diamantée. Les MEA ont été conçues de façon à pouvoir être utilisées directement sans report sur un PCB sur un système d'acquisition de la société Multi Channel Systems. Un anneau de verre est fixé à la surface des MEA pour permettre de réaliser des caractérisations électrochimiques puis des expériences biologiques.

⁸ Lift-off : Procédé utilisant les ultrasons pour structurer une couche métallique par dissolution de la résine sous-jacente dans l'acétone

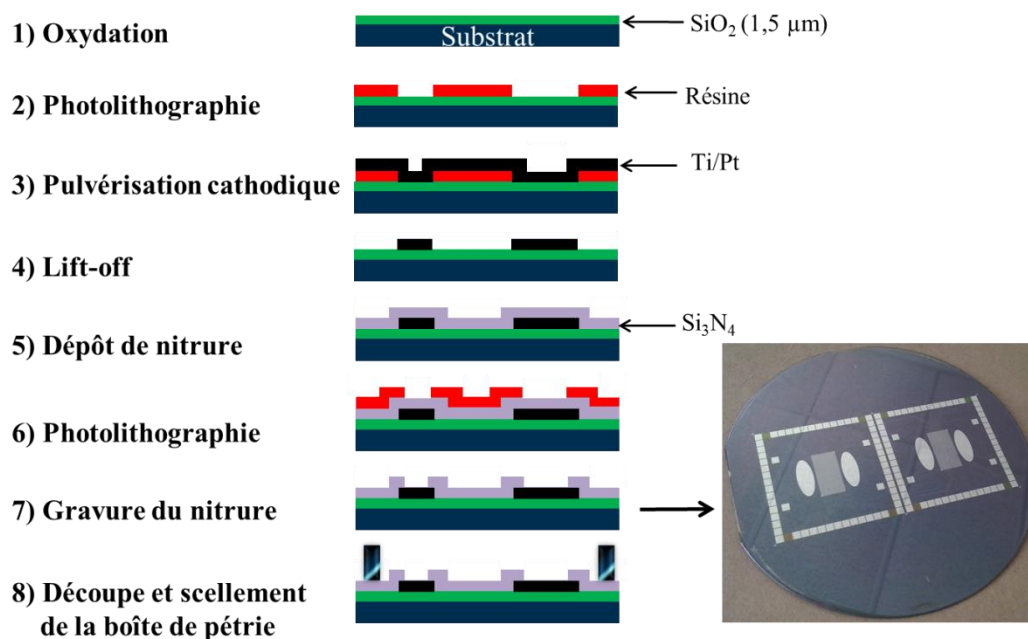


Figure 34 – Procédé de fabrication de MEA planaire en platine (de 3,9 cm de côté)

3.3 MEA en diamant

Le diamant a été choisi notamment pour ses propriétés de biocompatibilité, sa conductivité et sa large fenêtre électrochimique qui permet d’injecter une grande quantité de courant sans créer de réactions électrochimiques indésirables. La fabrication des MEA avec ce matériau est différente de celle des MEA en platine du fait de la croissance du diamant qui nécessite des températures élevées. Cela nous a donc contraints à développer avec notre partenaire CEA LCD, un nouveau procédé de fabrication original.

3.3.1 Procédé de fabrication des MEA en diamant

Les étapes du procédé de fabrication des MEA diamant représentées sur la Figure 35 définissent et font croître localement les électrodes en diamant avant le dépôt métallique des pistes et des plots de contact. Le détail de ce procédé est donné en annexe (p. 193). Le dispositif final ainsi qu’une électrode sont montrés en Figure 36.

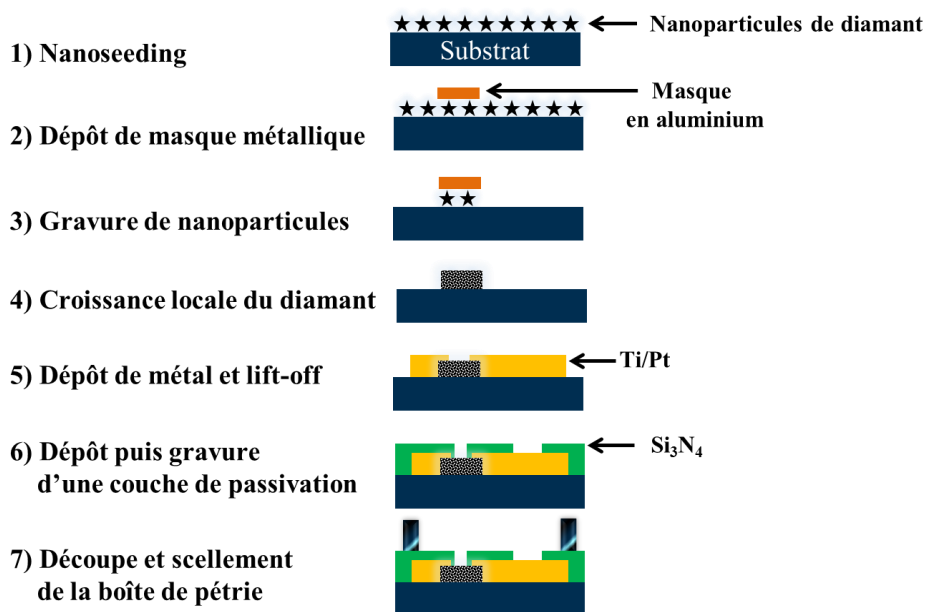


Figure 35 - procédé de fabrication de MEA diamant

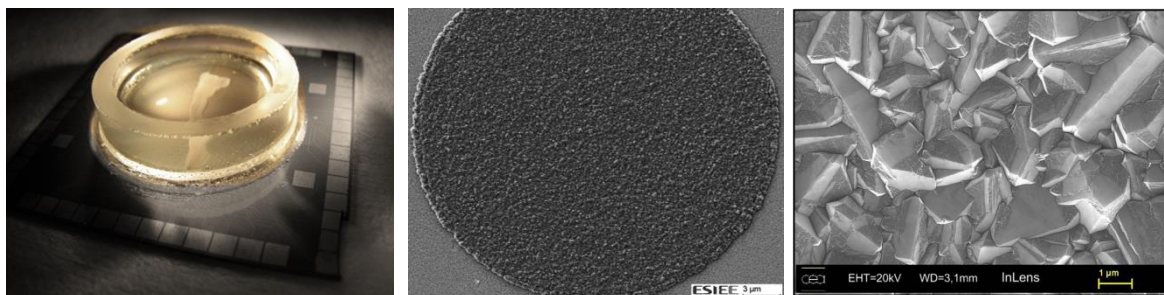


Figure 36 - MEA en diamant (de 3,9 cm de côté) avec une moelle épinière de souris (gauche), et électrode en diamant (milieu) avec un zoom sur la surface (droite)

Les MEA fabriquées sont ensuite caractérisées par CV et EIS pour tester et vérifier leur performance en fonction du matériau.

3.3.2 Caractérisations électrochimiques des MEA platine et diamant

La Figure 37 représente les résultats de CV effectués sur les électrodes de 34 μm de diamètre des MEA 8×8 en platine et en diamant dans une solution PBS (pH 7.2) réalisés à 0.1 $\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$. Cette expérience démontre que l'électrode en diamant possède une plus grande fenêtre de potentiel (3V) que l'électrode en platine (2V). Cela est en accord avec les valeurs trouvées dans la littérature où le diamant possède la plus grande fenêtre de potentiel parmi tous les autres matériaux que ce soit dans des solutions aqueuses ou non [55], [96], [97].

La Figure 38 présente les CV des mêmes électrodes dans une solution de ferri/ferrocyanure de potassium où les pics de séparation du potentiel d'oxydation et de réduction sont relevés à

63 mV à un taux de scan de $0.1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$. Cela démontre une extrême réactivité du diamant similaire à celle du platine.

Cette large fenêtre de potentiel du diamant peut s'expliquer par l'inertie de sa surface face à l'adsorption due à la présence des terminaisons hydrogènes présentes à sa surface [75].

Nous obtenons des résultats similaires avec les MEA 4×15 diamant.

Ces courbes de CV nous indiquent également sur la continuité de la couche de diamant et de la couche de passivation puisque les fissures et les trous dans l'électrode sont détectables car les courbes présenteraient une fenêtre électrochimique réduite dû au contact des pistes métalliques avec l'électrolyte.

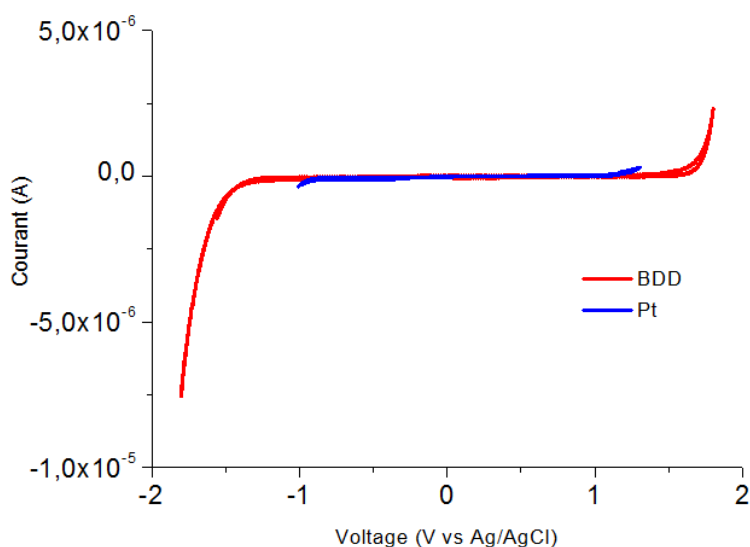


Figure 37 – Comparaison de CV d'électrode en diamant dopé (BDD) et en platine (Pt) de $34 \mu\text{m}$ de diamètre dans une solution de PBS scannée à 0.1 V/s

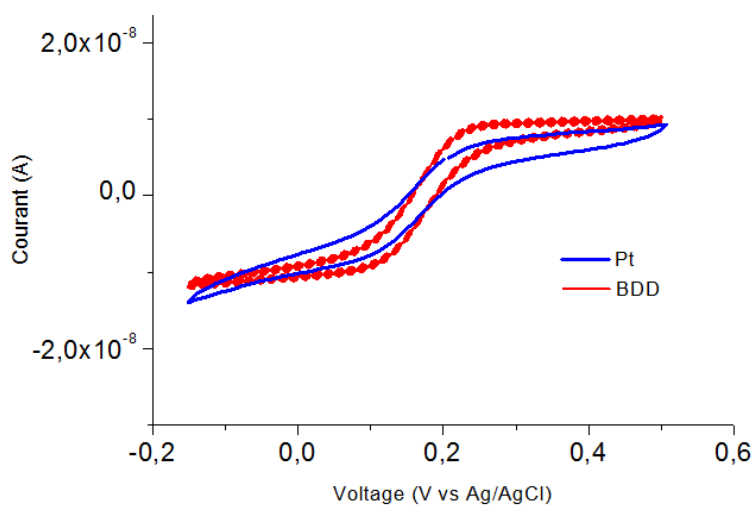


Figure 38 - Comparaison de CV d'électrodes en diamant et en platine de $34 \mu\text{m}$ de diamètre dans une solution de ferri/ferrocyanure de potassium scannée à 0.1 V/s

Des mesures d'impédances ont également été réalisées à 1 kHz, fréquence caractéristique correspondant à celle de l'activité biologique des neurones. Elles ont été faites avec le NanoZ avec une électrode Ag/AgCl dans le PBS. Nous trouvons des valeurs d'impédance dans une gamme de 1 à 1,3 M Ω avec une phase de -79° pour des électrodes en diamant de 34 μm de diamètre et de 2,8 à 3 M Ω avec une phase de -81° pour des électrodes en diamant de 20 μm de diamètre. Les impédances des électrodes en diamant sont relativement hautes mais des solutions sont actuellement à l'étude pour les réduire. Quant aux phases, elles sont proches de -90° ce qui suggère un comportement capacitif de l'électrode à 1 kHz comme nous l'avons vu sur le schéma équivalent.

Les MEA fourchettes doivent répondre à un enjeu important comme nous l'avons vu dans le Chapitre 1 pour tester une nouvelle stratégie de réhabilitation motrice destinée aux patients ayant subi une lésion au niveau de la moelle épinière. Cette approche fait partie du projet HYRENE. Nous allons donc décrire deux procédés de fabrication développés dans cette thèse, sur substrat en silicium puis en verre.

3.4 Design des MEA fourchettes

Les MEA fourchettes possèdent 64 électrodes réparties sur huit dents espacées entre elles de 200 μm (Figure 39). Sur chaque dent, il y a huit électrodes oblongues espacées les unes des autres de 200 μm . Chaque électrode est reliée par une piste métallique de 5 μm de large à un plot de contact qui sera connecté à un appareil pour des mesures. Les MEA possèdent une électrode de référence ainsi qu'un plan de masse entourant les électrodes de stimulation. Les dents sont longues de 1 cm pour pouvoir pénétrer la moelle épinière ainsi que le bulbe rachidien d'un raton. Sur un substrat de 4", une série de 26 fourchettes est fabriquée.

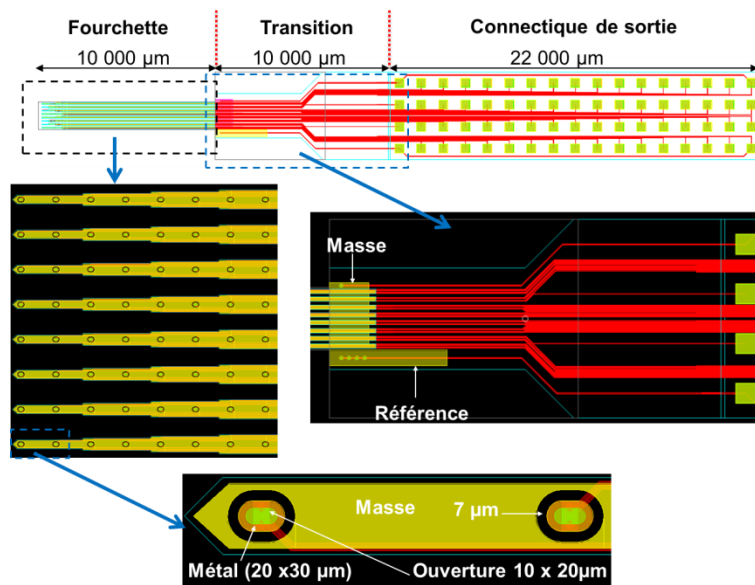


Figure 39 - Design des MEA fourchettes

3.5 Procédé de fabrication de fourchettes en silicium

Le procédé de fabrication de fourchettes en silicium représenté ci-après (Figure 40) et détaillé en annexe (p. 194) est un procédé où des substrats SOI (Silicon-On-Insulator) sont employés pour avoir un meilleur contrôle de l'épaisseur des pointes lors de la libération. Les premières étapes de fabrication pour obtenir les électrodes, pistes et plots de contact sont similaires aux MEA en platine (vues précédemment). Les deux étapes supplémentaires sont la création de la grille de masse et de l'électrode de référence et la gravure du silicium (face avant et arrière) permettant d'obtenir les dents des fourchettes. Les fourchettes obtenues sont illustrées en Figure 41.

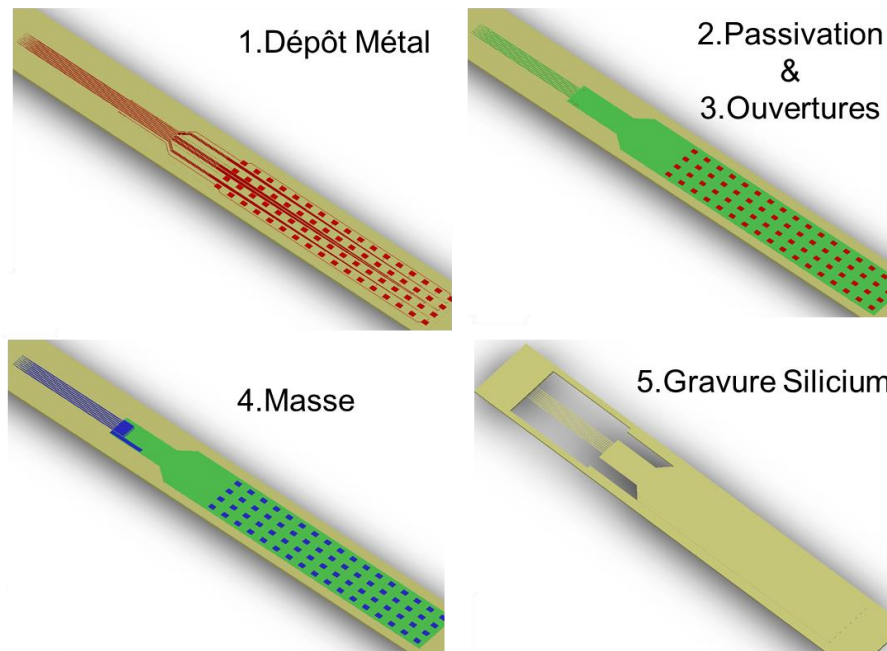


Figure 40 - Procédé de fabrication des fourchettes



Figure 41 – MEA fourchettes sur silicium

3.6 Procédé de fabrication de fourchettes en verre

Il y aurait un fort intérêt à fabriquer des fourchettes en verre car ce matériau est isolant, plus biocompatible que le silicium et sa transparence optique est utile pour les applications biologiques. Cependant, leur gravure n'est pas standard et nécessite encore des développements. De plus, par rapport aux SOI qui nécessitent une étape d'oxydation thermique, le verre offre une meilleure isolation électrique sans fuite de courant par le

substrat. Une première approche est proposée ici et nécessiterait encore de longs développements technologiques pour obtenir des MEA fonctionnelles.

Le procédé de fabrication des fourchettes sur verre ne diffère seulement de celui des fourchettes sur silicium qu'à l'étape de gravure du substrat pour obtenir les dents des fourchettes. Une fourchette en verre avec des dents non libérées est représentée ci-dessous (Figure 42) avec un zoom sur les dents non libérées.

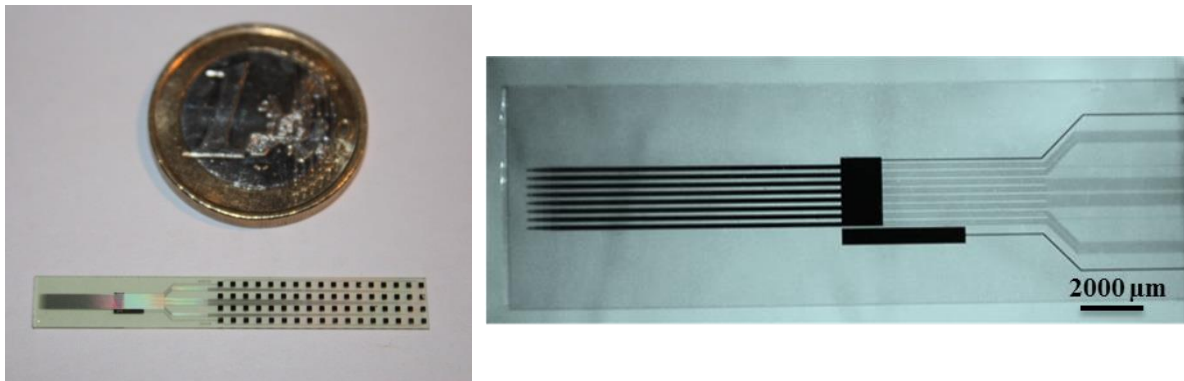


Figure 42 – MEA fourchettes sur verre avec des dents non libérées (gauche) et zoom sur les dents de la fourchette (droite).

Nous avons exploré deux voies pour former les dents des fourchettes en verre : une voie par gravure liquide et une voie par gravure profonde du verre. Concernant la première voie, des tests de gravure humide ont été effectués dans l'acide fluorhydrique (HF 50%) sur du verre avec un masque en or. On peut voir que ce masquage n'offre pas une bonne protection car même si les mêmes masques que les fourchettes en silicium (cf. §3.4) ont été utilisés, étant donné que la gravure du verre est isotrope, les côtés latéraux des dents sont sur-gravés ce qui cause la perte d'une partie des électrodes et des pistes (Figure 43). Bien qu'en modifiant les masques pour anticiper la sur-gravure puisque la gravure liquide augmente les dimensions des dents des fourchettes, celles-ci seraient alors trop grosses ou l'écart entre les dents serait trop grand pour les applications visées.

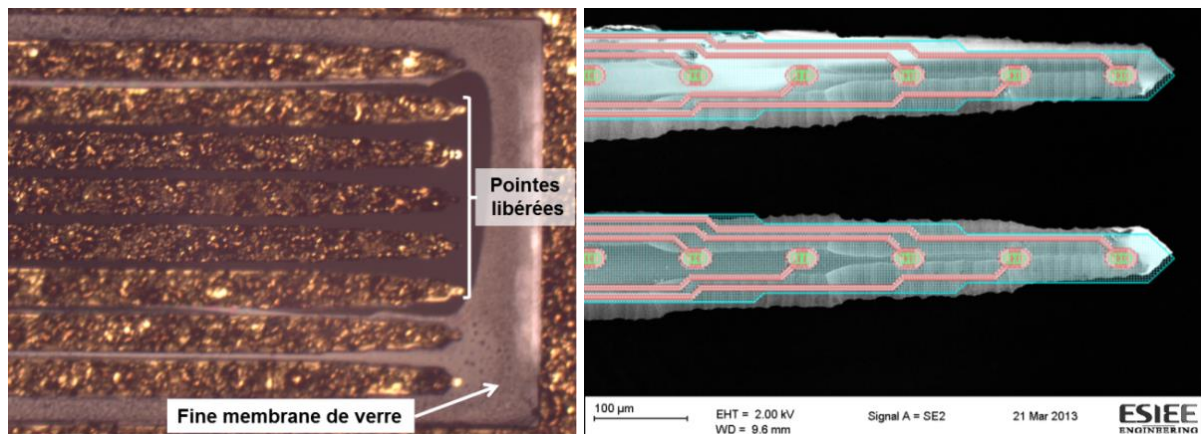


Figure 43 - fourchettes en verre : à gauche, avec un masque en or et à droite, sans le masque.

La seconde voie consiste à graver ces pointes en GDRIE (Glass Reactive Ion Etching). Les salles blanches de l'ESIEE ne possédant pas cet équipement, j'ai pu aller dans le laboratoire LNF (Lurie Nano-Fabrication) de l'université du Michigan aux Etats-Unis effectuer des tests de gravures sur verre avec leur équipement de GDRIE. Cependant, l'équipement était encore en phase de test et mon séjour a permis de prendre en main la machine de façon à mieux connaître les possibilités de gravure d'un tel équipement.

Nous avons choisi de qualifier ce procédé pour tester s'il serait possible de l'utiliser pour réaliser les dents des fourchettes ainsi que des pointes à plus long terme.

4. Voie exploratoire de la gravure du verre

4.1 Principe de la gravure GDRIE

4.1.1 Description générale

La gravure DRIE (Deep Reactive Ion Etching) ou gravure profonde par ions réactifs est un procédé de gravure fortement anisotrope. Le bâti de DRIE (RIE-ICP) se caractérise par une haute densité de plasma, une faible pression lors du procédé, une vitesse de gravure élevée et une bonne uniformité de gravure permettant l'obtention de grands rapports d'aspects pouvant excéder jusqu'à 160:1 pour le silicium [98] et 3,1 :1 pour le verre [99].

La gravure du verre fait appel à un plasma de faible pression qui peut générer une grande densité d'ions pour une gravure anisotropique. Il est possible d'obtenir des structures à fort rapport d'aspect en contrôlant indépendamment la densité du plasma et la vitesse de

bombardement des ions. L'ICP-RIE permet cela car c'est une combinaison permettant à la fois de changer la densité d'ions tout en modifiant d'autres paramètres du plasma contrairement au bâti de gravure classique RIE (Figure 44). Afin de mieux comprendre la gravure GDRIE il est nécessaire de la discerner de la gravure DRIE du silicium.

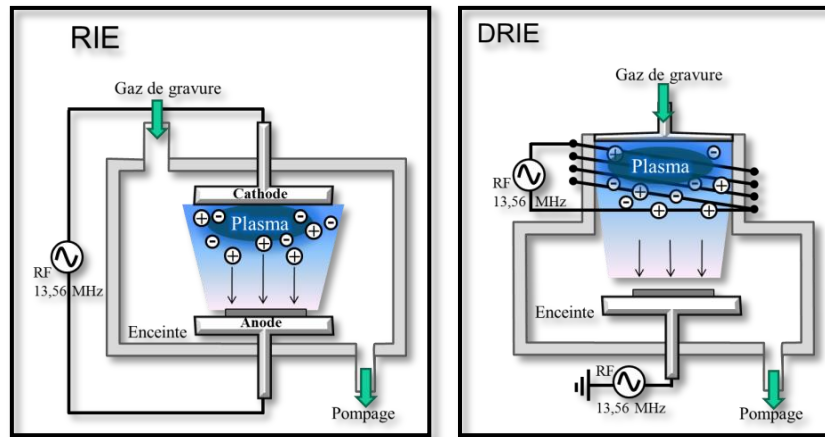


Figure 44 - Bâti de gravure RIE (gauche) et DRIE (droite)

Pour le silicium, il y a deux types de gravure: la gravure cryogénique et la gravure pseudo Bosch.

La gravure cryogénique du silicium est effectuée avec des températures du substrat allant de -85°C à -140°C . La plus basse température de substrat favorise les réactions du silicium avec l'oxygène pour générer des couches minces de passivation tout en permettant la gravure. C'est une gravure avec passivation utilisant SF_6 comme gaz de gravure et O_2 comme catalyseur pour la couche de passivation [100]. Le gaz SF_6 est ionisé dans le plasma pour créer un mélange d'espèces SF_x et F . Quand l'ion fluor atteint le substrat, il peut enlever un atome de silicium selon trois mécanismes: chimique (l'ion fluor se combine chimiquement avec le silicium formant un produit volatil, SiF_4 , qui est pompé hors de la chambre de gravure), physique (l'ion fluor s'impacte sur le substrat et déloge le silicium de son emplacement) ou par ions assistés (l'ion fluor s'impacte sur le substrat et se lie chimiquement avec le silicium). Ce qui est particulièrement unique à propos de cette gravure est que la couche de passivation peut être créée avec des ions oxygènes et les produits issus de la gravure SF_x . En diminuant la température en dessous de -85°C , la recombinaison du silicium de l'oxygène et du fluor devient énergétiquement favorable pour créer une fine couche de SiO_xF_y agissant comme une couche de protection contre les ions. La **gravure cryogénique est principalement une gravure chimique** où le contrôle de la densité d'ions fluor influence beaucoup le taux de gravure.

La gravure du silicium selon le procédé Bosch (Figure 45) avec les gaz SF_6 et C_4F_8 est une alternance entre une étape de gravure et une étape de passivation à température ambiante (20°C). Contrairement à la gravure cryogénique, le gaz de passivation injecté pour l'ionisation est différent. Cela a pour conséquence un contrôle plus facile du profil de gravure. Le SF_6 est injecté et ionisé dans la chambre pour produire des ions fluorés et des radicaux pour la gravure du silicium donnant comme produits de gravure volatils, SiF_4 . Le C_4F_8 est injecté et ionisé pour créer une chaîne de polymère de CF_2 qui se dépose sur le substrat. Ce polymère protège la surface du silicium de la gravure chimique. Cependant le bombardement des ions SF_x et F_y enlève la couche de passivation sur les surfaces horizontales plus vite que ne se dépose le polymère. Par-dessus tout, l'effet observé est des flans recouverts de polymères avec des surfaces horizontales libres à graver. La passivation et la gravure présentent des flans striés (scalloping) caractéristiques de la gravure Bosch (dont l'effet est très limité si le procédé est optimisé). Une quantité significative de bombardement doit se produire pour enlever la couche de passivation pour que la gravure du silicium s'effectue. Pour cette raison, **la gravure Bosch est plus considérée comme une gravure physique du silicium qu'une gravure chimique.**

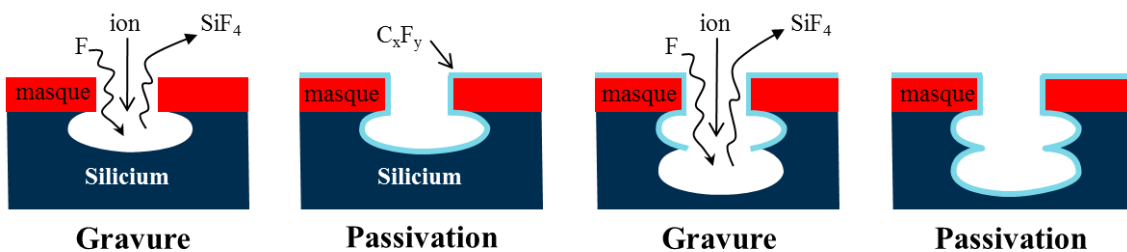


Figure 45 – Les différentes étapes de la gravure Bosch

Contrairement aux deux gravures du silicium, la gravure du verre vient principalement d'un seul gaz et il n'y a pas de gaz dédié à la passivation ce qui ne signifie pas que le phénomène de passivation ne se produit pas. La gravure du verre en GDRIE repose sur les gaz précurseurs tels que SF_6 , C_4F_8 , CHF_3 qui sont dissociés en radicaux et ions. Ceux-ci sont utilisés dans les mécanismes de gravure physiques et chimiques (combinaison d'un bombardement ionique et d'une attaque chimique), tous deux présents dans la gravure plasma.

Notre procédé de gravure s'effectue à 10°C et utilise du C_4F_8 qui est injecté dans l'ICP et ionisé pour créer un mélange de gaz d'ions fluorés et carbonés. Ces ions sont ensuite accélérés

vers le substrat de verre (SiO_2) où le carbone se combine avec l'oxygène et l'ion fluorure avec le silicium de la silice. Les produits volatils issus de la gravure, SiF_4 et CO_2 sont ensuite pompés hors de la chambre tandis que d'autres produits non volatils tels que des polymères de fluorocarbone peuvent se redéposer à la surface du substrat pouvant ralentir ou arrêter la gravure [101].

D'autres gaz comme O_2 , H_2 , Ar et He peuvent être ajoutés pour améliorer la stabilité, la sélectivité de la gravure ou encore la pénétration des ions gravants [99]. Dans notre procédé, nous avons utilisé de l'hydrogène et de l'hélium. L'hydrogène est essentiellement ajouté pour améliorer la sélectivité du masque de protection en durcissant la résine KMPR et pour aussi réduire dans le plasma la quantité d'ions fluorure présente, très réactive avec beaucoup de résine [102] et donc aussi le dépôt de polymère. L'hélium réduit la densité de réactif C_4F_8 , ce qui stabilise le plasma et réduit également le dépôt de polymère fluorocarboné [103], [104].

Cette gravure est différente de la gravure Bosch du fait que le substrat est simultanément gravé et passivé. De plus, une grande énergie d'activation (puissance de polarisation bias élevée) est requise pour briser les liaisons Si-O contrairement à la gravure du silicium qui ne nécessite pas ou peu de puissance bias. Cependant cette puissance permettant un bombardement ionique important est aussi nuisible à la sélectivité car beaucoup de matériaux y compris les résines (d'où l'intérêt de l'addition de l'hydrogène vu plus haut), sont facilement pulvérisés par ces espèces ioniques.

Le taux de gravure est influencé par de nombreux paramètres tels que: les matériaux à graver, la propreté de la chambre, le mélange de gaz utilisé, le débit de gaz, la pression, la puissance [105]. Le réglage des différents paramètres (pression, débit, puissance, température, polarisation) va privilégier le processus de gravure chimique par rapport à la gravure physique ou inversement.

Nous allons ainsi dans la partie suivante décrire les optimisations et les procédés de GDRIE développés au LNF.

4.2 Procédé et optimisation de la GDRIE

4.2.1 Principe de fabrication de structures 3D en verre

Le procédé de fabrication se déroulera en 2 ou 3 étapes (Figure 46) selon le dispositif souhaité (dents des fourchettes ou pointes 3D):

(1) l'optimisation du masque de protection en résine négative épaisse (KMPR de MicroChem)

(2) la gravure GDRIE anisotrope de la silice fondue

(3) la gravure humide isotrope de la silice fondue

Selon des masques de protection spécifiques utilisés, l'obtention des dents des fourchettes nécessite l'étape (1) et (2) tandis que l'obtention des pointes 3D, les étapes (1) à (3).

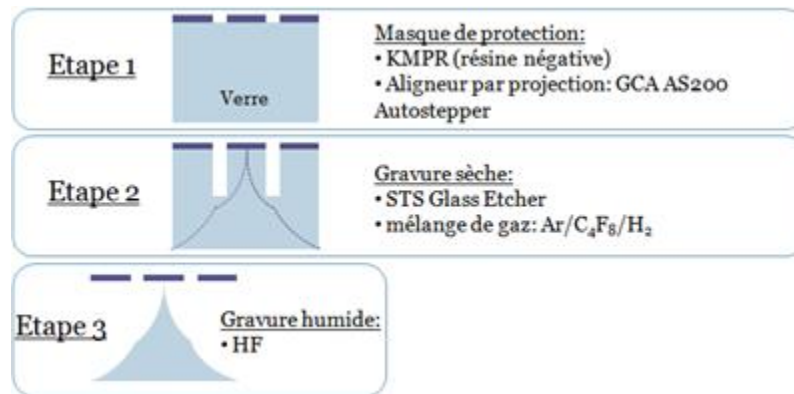


Figure 46 - Etapes de fabrication des MEA 3D en verre

Le masque de protection servira de protection des zones qui seront physiquement et chimiquement gravées. La gravure sèche permet la gravure des zones du substrat non protégées par le masque et la gravure humide permettra l'obtention de pointes.

Pour obtenir des MEA transparentes, nous devons utiliser des substrats optiquement transparents. Nous avons le choix entre du verre borosilicaté (plus connu sous le nom de Pyrex[®] ou Duran[®]) et de la silice fondue (Fused Silica ou FS). La silice fondue est obtenue par fusion à haute température du quartz (silice cristalline de haute qualité). Elle est composée de 99 % de dioxyde de silicium (SiO₂) tandis que le verre borosilicaté est composé de 80 % de dioxyde de silicium, d'oxydes de bore ainsi que d'autres composés tels que les oxydes métalliques.

Ainsi pour optimiser le masque de protection (étape 1), nous avons choisi d'utiliser des substrats borosilicatés qui sont moins onéreux que ceux en silice fondue. Mais après cette étape d'optimisation, nous avons privilégié l'utilisation des substrats en silice fondue pour la gravure sèche (étape 2) car étant un matériau plus pur comparé au borosilicate, nous limiterons les problèmes de propreté de la chambre de gravure GDRIE.

4.2.2 Design et optimisation du masque de protection

Le masque comporte des motifs de caractérisation (lignes, tranchées, trous et plots), des motifs "couronnes" (Figure 47, design 1) et des motifs "barillets" (Figure 47, design 2). Le diamètre $D1$ a des valeurs de 10, 20 et 30 μm , l'épaisseur $D3$: 8 et 10 μm , les trous et les tranchées $D2$ de 2, 5 et 10 μm .

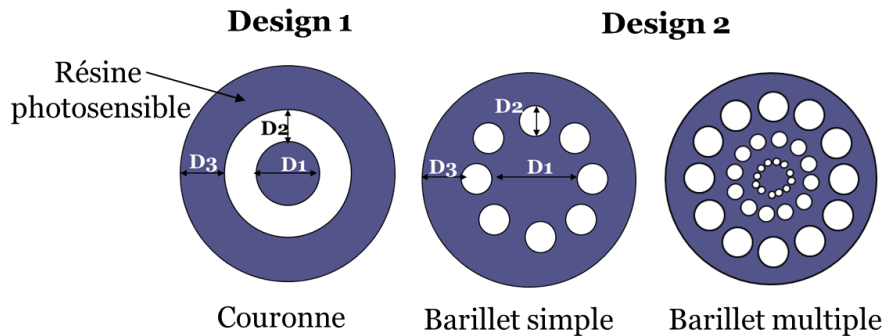


Figure 47 - Designs des motifs pour la gravure GDRIE

Le design a été réalisé afin de caractériser la vitesse de gravure et de qualifier l'effet d'ARDE (Aspect-Ratio Dependent Etching) (Figure 48) qui se traduit par une diminution de la vitesse de gravure dans les petites ouvertures par rapport aux ouvertures plus grandes [106]. Ainsi, on espère jouer sur ces ouvertures pour obtenir des pointes. En effet, avec le motif "barillet" le profil de pointe est plus effilé qu'avec le motif "couronne" (Figure 48).

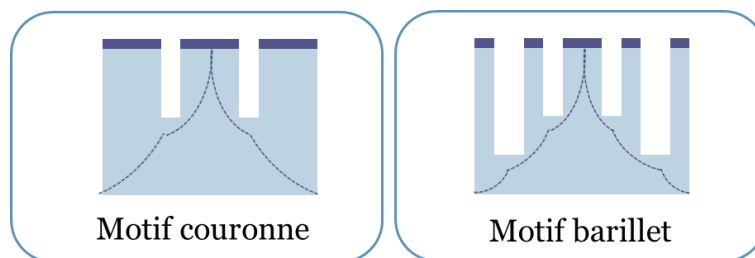


Figure 48 - profil de pointe souhaitée après gravure sèche puis humide

Les années précédentes, des masques métalliques ont été utilisées au laboratoire LNF et un problème majeur se posait: il y avait re-déposition du masque de protection dans la chambre du Glass Etcher. Les vitesses de gravure dépendent de la propreté de la chambre et sont ainsi moins bien contrôlées du fait de cette contamination.

Par conséquent, nous avons choisi un masque de protection en résine KMPR 1010 [107], une résine photosensible négative à base d'époxyde qui est aussi résistante à la gravure physique que chimique et avec laquelle on peut atteindre un grand rapport d'aspect (>10:1).

Pour obtenir une bonne résolution du masque de protection, on peut utiliser une couche de revêtement réfléchissant les UV telle que le chrome ou l'aluminium mais ces matériaux peuvent causer des problèmes de contamination. L'utilisation du silicium amorphe serait une alternative car en tant que couche bloquant les UV, elle permettrait d'avoir une meilleure résolution et un meilleur profil de la résine car elle empêche la diffusion des UV dans le verre (Figure 49). Nous avons donc opté pour l'utilisation de silicium amorphe qui servira également de masque lors de la gravure humide (étape 3 du procédé).



Figure 49 - Diffusion des UV dans le verre sans couche de revêtement (à gauche) et avec couche de revêtement (à droite).

Le substrat obtenu est présenté en Figure 50 et certains motifs en KMPR réalisés sont regroupés ci-après sur la Figure 51. Les étapes de structuration de la résine sont décrites en annexes (p.197)

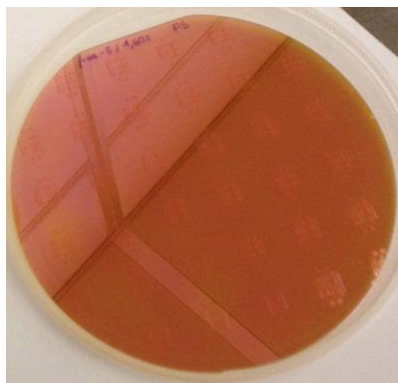


Figure 50 – Substrat en silice fondue recouvert d'une couche de silicium amorphe avec des motifs en KMPR

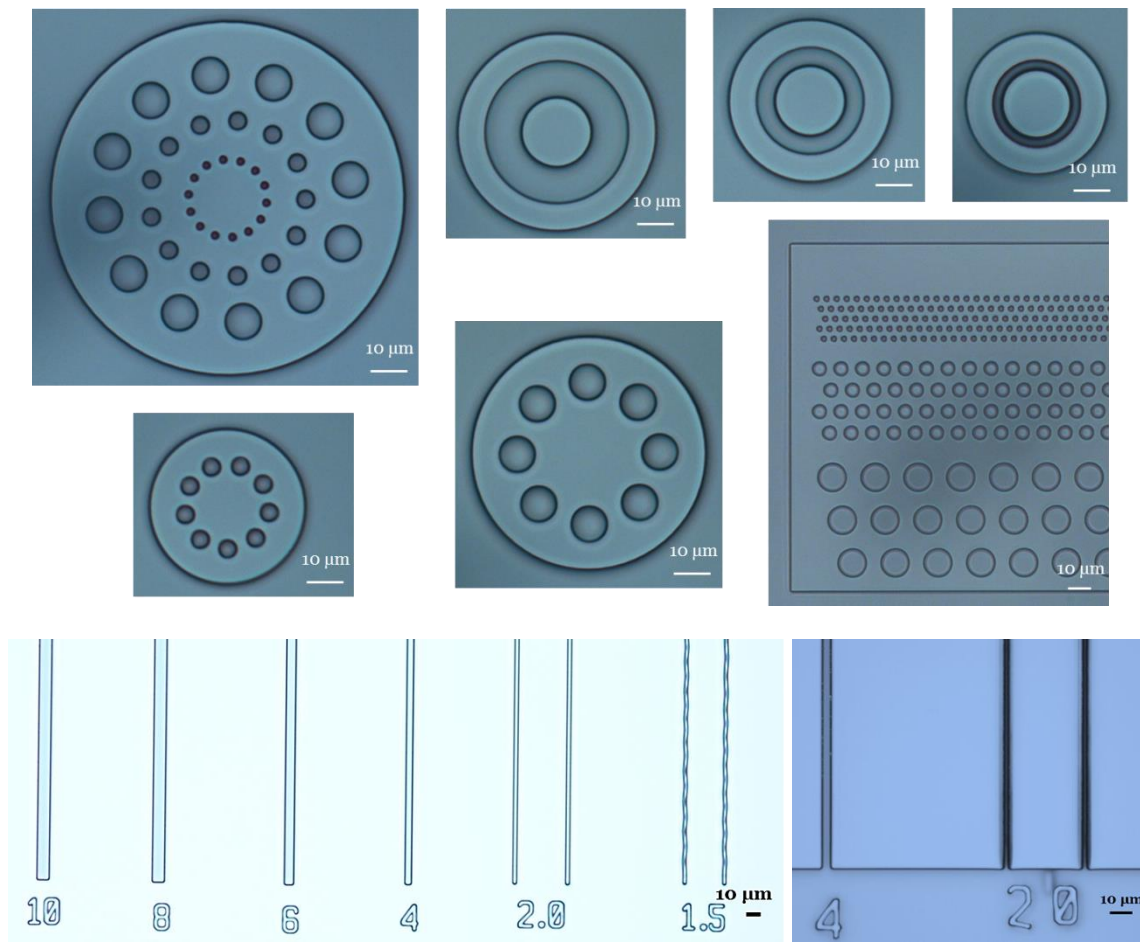


Figure 51 - Motifs en résine KMPR.

Le procédé de photolithographie a été optimisé pour obtenir des motifs en KMPR de 17 μm d'épaisseur et de taille inférieure à 1,5 μm qui serviront de masquage pour la prochaine étape qui consiste à graver le verre en GDRIE.

4.2.3 Procédé de gravure GDRIE développé au LNF

Préalablement à la gravure GDRIE, le silicium amorphe (couche servant à limiter la diffusion des UV) est retiré par un plasma SF_6 avant de graver le verre selon les conditions représentées dans la Tableau 4.

La gravure du verre s'effectue suivant plusieurs cycles de gravure appelés RAMPE et entrecoupés de cycles de nettoyage par plasma d'oxygène pour éliminer les polymères qui se sont formés dans l'enceinte lors de la gravure. La RAMPE 1 comporte l'étape "descum" qui met en œuvre un plasma d'oxygène et d'argon pour nettoyer les résidus de résine KMPR subsistants après le développement ; et l'étape "breakthrough" qui emploie un bombardement ionique d'argon pour graver la résine et le substrat à un même taux (environ 200 $\text{\AA}/\text{min}$) pour

nettoyer et lisser les surfaces. Ensuite l'étape "standard material process" fait intervenir un mélange de gaz C_4F_8 , H_2 et He pour graver la silice fondue. Cette dernière étape est répétée autant que nécessaire jusqu'à atteindre l'épaisseur du verre gravé souhaitée sous condition d'avoir une épaisseur de résine KMPR suffisante pour protéger les zones voulues.

RAMPE 1 (30 min de gravure) :
- Pression: 6 mTorr
- Puissance: 1400 W
- Température du chuck: 10°C
Etape 1: Descum (20 sec): 100 sccm H_2 / 50 sccm Ar
Etape 2: Breaktrought (30 sec): 200 sccm Ar
Etape 3: Standard material process (30 min): 30 sccm C_4F_8 / 35 sccm H_2 / 200 sccm He
RAMPE 2 (30 min de gravure) :
- Pression: 6 mTorr
- Puissance: 1400 W
- Température du chuck: 10°C
- Standard material process: 30 sccm C_4F_8 / 35 sccm H_2 / 200 sccm He
Etape de nettoyage O_2 clean (15 min) après chaque RAMPE

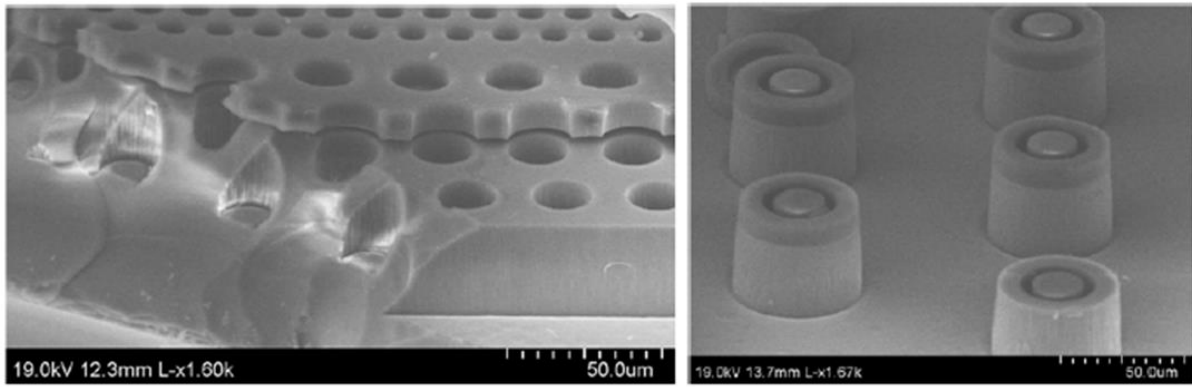
Tableau 4 – Conditions de gravure du verre.

Les échantillons gravés en GDRIE sont ensuite préalablement métallisés pour être observés au SEM afin de déterminer l'épaisseur de verre gravée mais aussi déterminer la résolution des motifs gravés (profondeur, profil). Ces caractérisations nous permettront d'évaluer les limites de la gravure GDRIE.

4.2.3.1 Observation des échantillons gravés au SEM

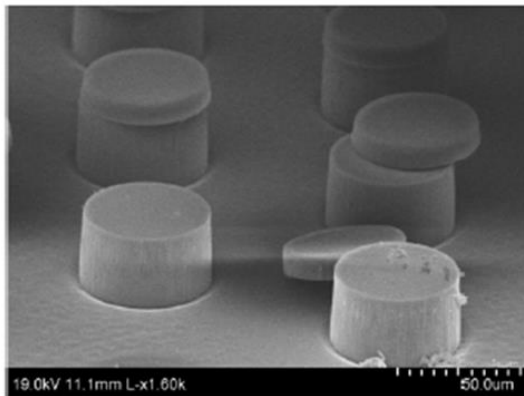
Les photographies au SEM de gravure sèche d'un l'échantillon avec 17 μm de résine KMPR sont regroupées en Figure 52. En vue de mesurer les profondeurs gravées, nous avons effectué une coupe transversale du verre où nous pouvons apercevoir qu'à certains endroits, la résine KMPR s'est délaminiée (probablement suite à la coupe du verre).

Pour une ouverture de 10 μm , on a gravé une profondeur de 25 μm en 3h15 (Figure 52 - d). On peut voir sur la Figure 52 – f qu'il reste 9 μm de résine qui nous aurait permis de graver 55 min de plus et d'atteindre les 50 μm de profondeur de verre gravé.

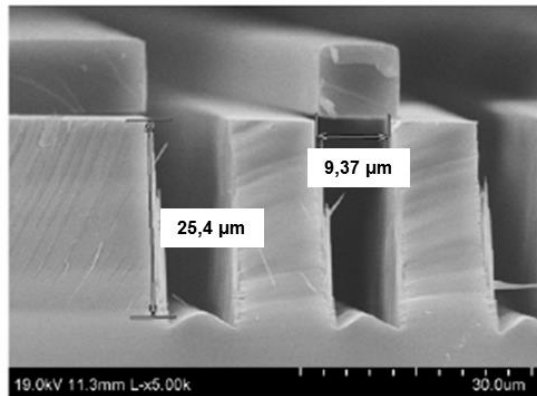


(a) Trous de caractérisation

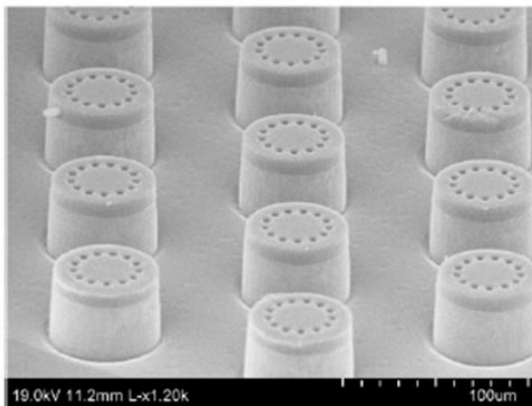
(b) Plots 50 μm , ouverture 5 μm



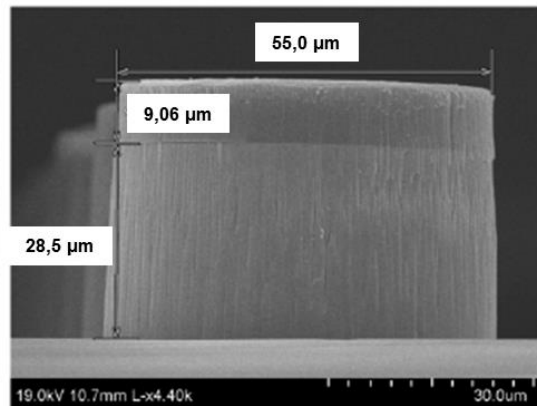
(c) Plots 50 μm avec trous de 2 μm non visibles



(d) Tranchées de 10 μm



(e) Plots 50 μm avec trous de 5 μm



(f) Plots 50 μm avec trous de 5 μm , vue de profil

Figure 52 - 60 min de gravure pour une épaisseur de 17 μm

Les caractéristiques de la gravure sont regroupées dans le Tableau 5 où les épaisseurs de résine et de verre gravées nous permettent de déterminer une sélectivité du verre par rapport à la résine de 3:1. Comme nous l'attendions, les vitesses pour les petites ouvertures sont plus faibles que les grandes ouvertures, ce qui est dû au phénomène ARDE vu précédemment.

Motifs gravés	Flan (grandes ouvertures)		Ouverture de 10 μm
Épaisseur de résine gravée			7,9 μm
Épaisseur de résine restante			9,1 μm
Épaisseur de verre gravé	28,5 μm		25,4 μm
Vitesse de verre gravé	0,47 $\mu\text{m}/\text{min}$		0,42 $\mu\text{m}/\text{min}$
Vitesse moyenne de verre gravé			0,44 $\mu\text{m}/\text{min}$
Vitesse moyenne de résine gravée			0,13 $\mu\text{m}/\text{min}$
Sélectivité verre/résine			3 :1

Tableau 5 - Résumé de la gravure GDRIE de 60 min avec un masque KMPR de 17 μm

On remarque également que le profil des tranchées (d) de la Figure 52 est caractéristique d'un bombardement ionique important. En effet, la Figure 53 montre que lorsque l'énergie ionique est insuffisante, la vitesse de gravure diminue en premier sur les parois (A) tandis que lorsque l'énergie ionique est en excès, la vitesse de gravure est plus rapide sur les parois (B) [99].



Figure 53 – Profil de tranchée: (A) énergie ionique insuffisante et (B) énergie ionique en excès

Il est possible d'augmenter le temps de gravure pour graver davantage mais mon séjour touchait à sa fin avant que je n'ai pu optimiser totalement cette gravure. De retour en France, nous avons poursuivi le procédé avec une gravure humide qui permet "d'abattre" les parois et la couronne afin d'obtenir une pointe. Dans la prochaine partie, nous testons différents temps de gravure humide des échantillons post GDRIE.

4.3 Tests de gravure humide au HF

Trois motifs (couronne, barillet avec des trous de 2, 5 et 10 μm et barillet de 20 μm de diamètre central, de 10 μm d'épaisseur de tranchée et de 8 μm d'épaisseur de couronne) sont gravés au HF 50% (Figure 54, Figure 55, Figure 56). On peut observer l'évolution de leur gravure présentée par les images prises ci-dessous. Bien que la gravure soit considérée comme isotrope, la vitesse semble différente selon l'ouverture : le verre est gravé plus rapidement dans les grosses ouvertures (tranchées) que dans les petites ouvertures (multiples trous). Cela peut s'expliquer par le fait que la solution d'acide a plus de difficulté à pénétrer

dans les petites ouvertures que les grandes mais aussi que n'étant pas sous agitation, les quantités d'acides réagissant avec le verre ne sont pas renouvelées dans les étroites ouvertures. Nous pouvons également noter que la résine KMPR n'a pas résisté à la gravure HF.

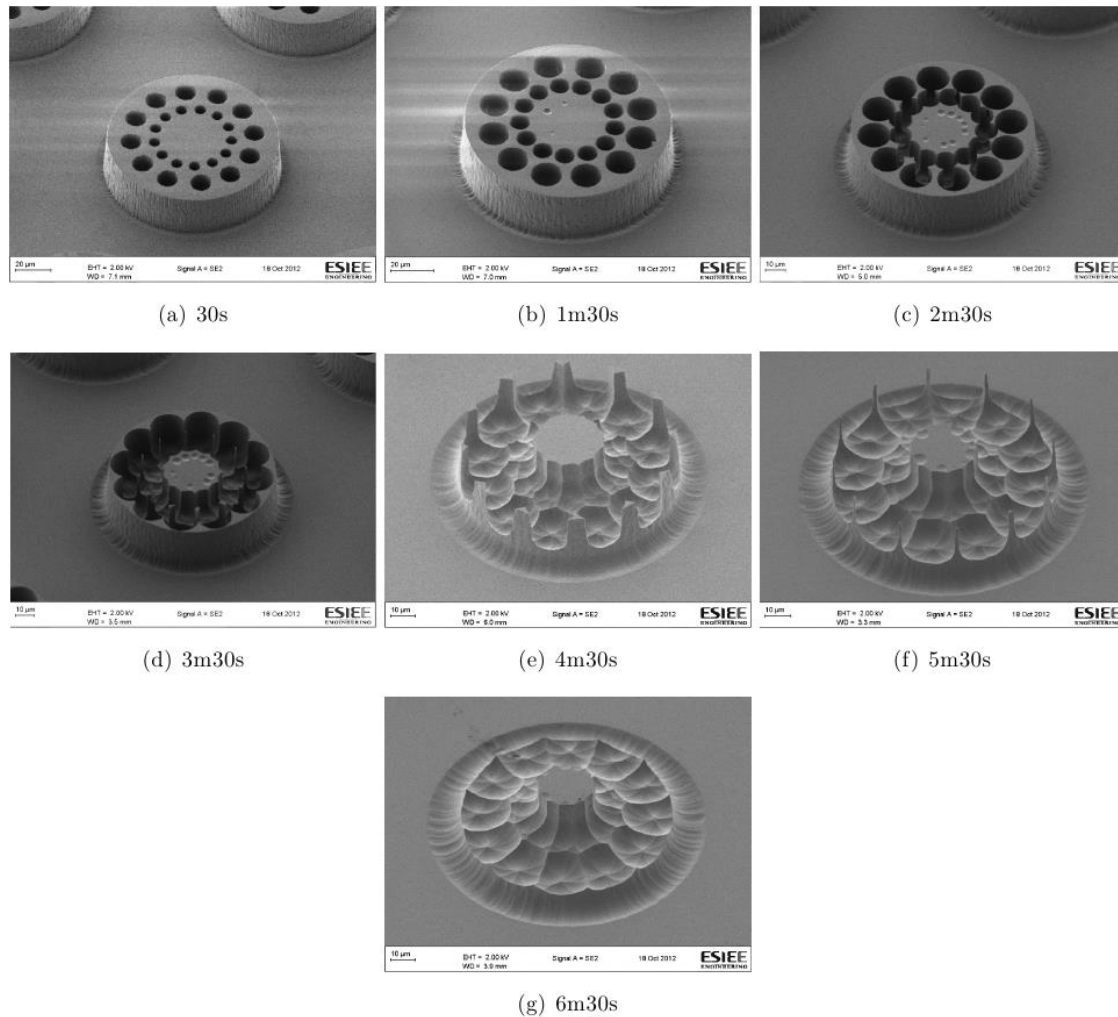


Figure 54 - Différents temps de gravure humide au HF 50% d'un barillet avec des trous de 2, 5 et 10 μ m

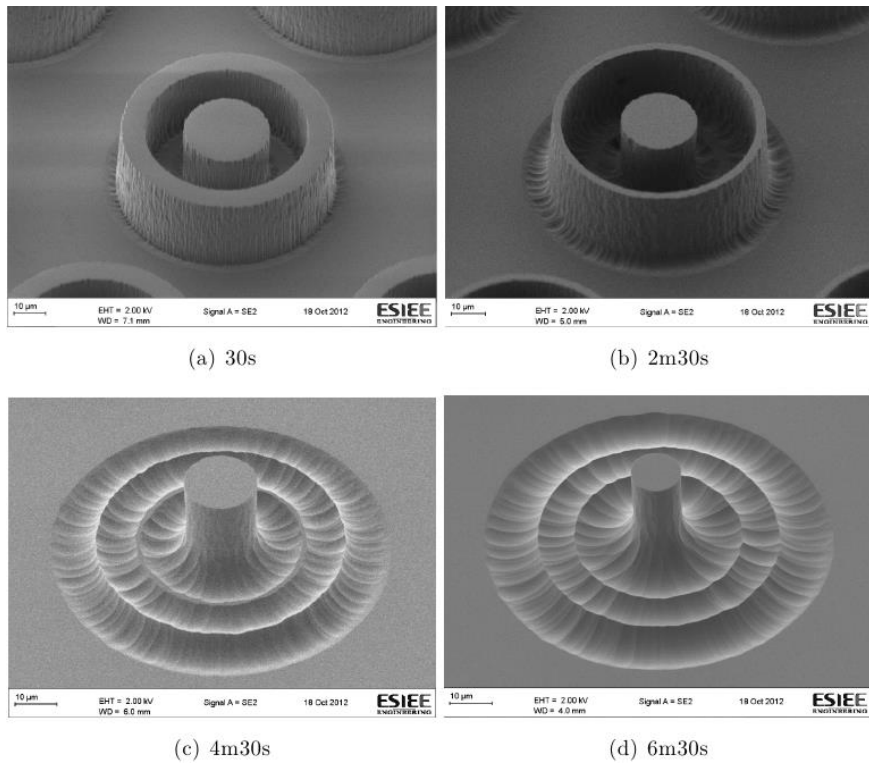


Figure 55 - différents temps de gravure humide au HF 50% d'une couronne de 30 μm de diamètre central, 10 μm d'épaisseur de tranchée et de couronne

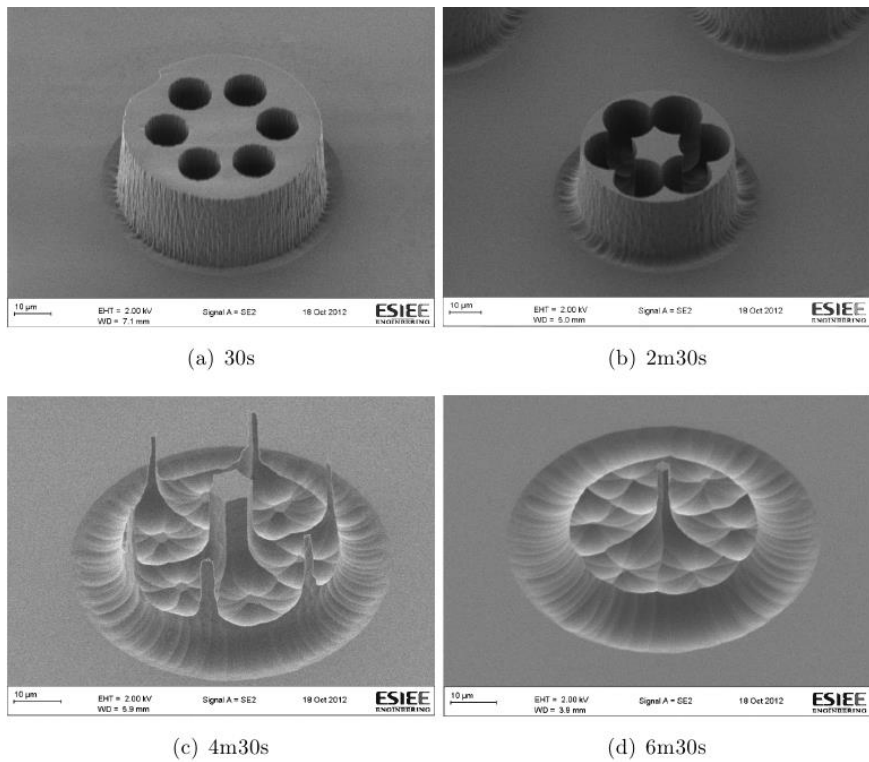
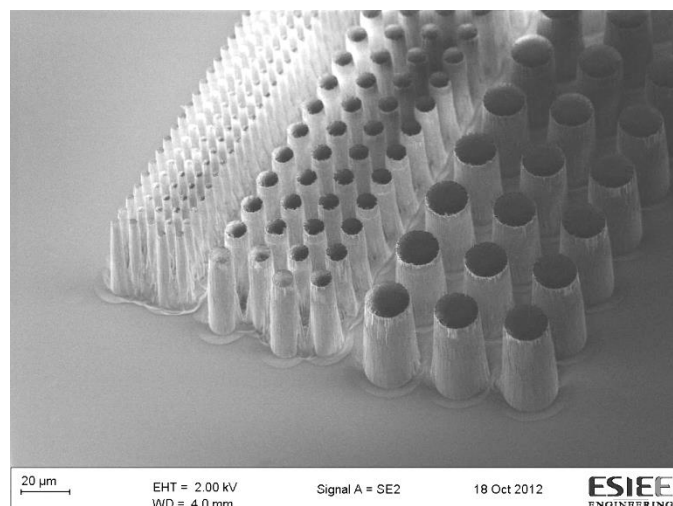
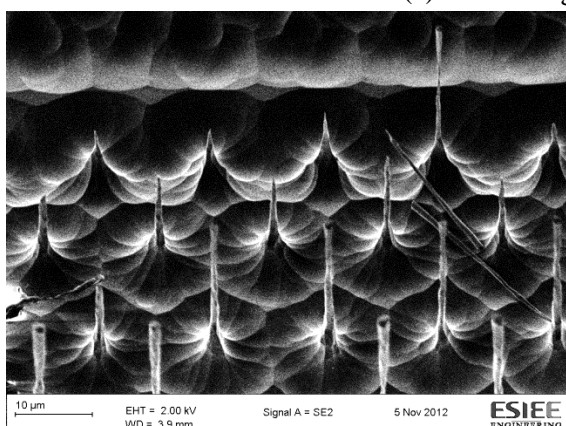


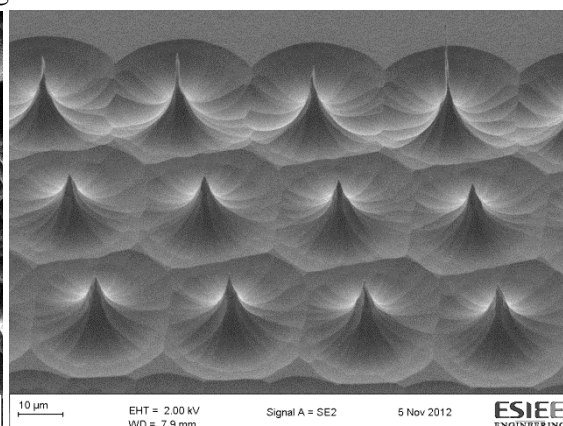
Figure 56 - différents temps de gravure humide au HF 50% d'une couronne de 20 μm de diamètre central, 10 μm d'épaisseur de tranchée et 8 μm d'épaisseur de couronne



(a) 0 min de gravure au HF 50%



(b) 8 min de gravure au HF 50%



(c) 9 min de gravure au HF 50%

Figure 57 - différents temps de gravure humide au HF 50% d'une structure de test en rangée de plots : (a) de 5, 10 et 20 μm de diamètre à 0 min de gravure ; de 20 μm de diamètre : (b) : 8 min de gravure ; (c) : 9 min de gravure

Le résultat obtenu pour les trois motifs n'est pas une pointe mais un cylindre. En poursuivant la gravure, on obtient les pointes voulues (Figure 57 (c)) mais leur hauteur est environ trois fois plus petite que celle attendue car on peut voir que les cylindres cassent à leur base. Ce qui signifie qu'il faudrait avoir au départ des structures en verre trois fois plus profondes pour obtenir une bonne taille de pointe après la gravure humide ou bien qu'il faudrait réadapter les designs. Ce travail de gravure du verre a permis d'obtenir une première série de pointes 3D en verre. Un travail d'optimisation serait à continuer afin d'atteindre la hauteur de pointe recherchée (c'est-à-dire assez longues : supérieure à 50 μm , typiquement 80 μm pour pénétrer un tissu en profondeur). Cette technique combinée GDRIE et gravure humide reste prometteuse puisqu'avec ces structures de tests, nous avons vu qu'il pourrait être

possible de réaliser des micro-pointes en verre. Cependant, cette technique mais n'a pas pu être exploitée pour les MEA fourchettes faute de temps.

La gravure GDRIE serait une bonne alternative au développement de fourchettes en verre. Cependant, il ne serait pas possible comme pour les fourchettes en silicium de les libérer car on ne peut graver que 50 μm au maximum. Une alternative pourrait être la combinaison de la gravure de la face avant par GDRIE et de la gravure de la face arrière par une gravure liquide représentée sur la Figure 58.

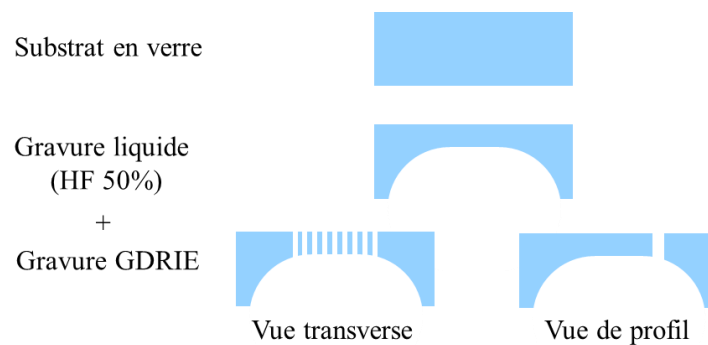


Figure 58 - Gravure liquide au HF combinée à une gravure DRIE d'un substrat en verre pour la fabrication de fourchettes MEA en verre

Une autre alternative serait l'utilisation d'un substrat SOG (Silicon-On-Glass) comme le montre la Figure 59 qui est composé d'un wafer en verre collé sur un substrat en silicium. L'épaisseur du substrat en verre définira l'épaisseur finale des fourchettes MEA. On utiliserait la gravure GDRIE pour former les fourchettes et le substrat en silicium serait gravé par DRIE comme précédemment pour les libérer.

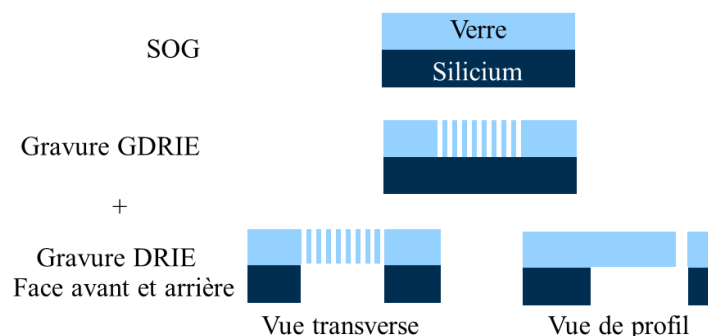


Figure 59 - Gravure GDRIE combinée à une gravure DRIE d'un substrat SOG pour la fabrication de fourchettes MEA en verre

Ces voies pourraient être développées alternativement dans les futurs travaux de recherche.

Après avoir réalisé les MEA fourchettes sur des substrats en silicium et en verre (avec les dents des fourchettes en verre non libérées), nous avons électrodéposé du platine noir sur les électrodes afin d'augmenter la surface effective des électrodes sans augmenter le diamètre de l'électrode et donc réduire l'impédance. Nous détaillerons cette technique dans la suite.

5. Electrodeposition de platine noir sur les fourchettes

5.1.1 Calcul du courant à appliquer

L'intensité du courant à appliquer dépend de la surface. Tout d'abord nous avons calculé la surface de nos électrodes en décomposant leur forme, à savoir un rectangle aux coins arrondis de $20 \times 30 \mu\text{m}$, en un rectangle de $10 \times 20 \mu\text{m}$ et un cercle de $20 \mu\text{m}$ de diamètre.

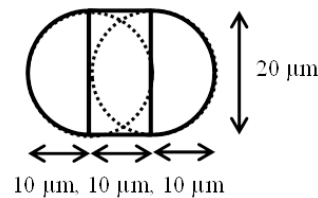


Figure 60 -Dimension de l'électrode d'une MEA fourchette

La surface du cercle se calcule selon la formule suivante:

$S_{\text{cercle}} = \pi \times r^2$ avec r , le rayon du cercle.

Pour un rayon de 10^{-3} cm, nous aurons : $S_{\text{cercle}} = \pi \times (10^{-3})^2 = 3,14 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2$

Et la surface d'un rectangle, selon :

$S_{\text{rectangle}} = l \times L$ avec l , la largeur et L , la longueur

Ainsi pour une largeur de $10 \cdot 10^{-4}$ cm et une longueur de $20 \cdot 10^{-4}$ cm, nous aurons :

$S_{\text{rectangle}} = 10 \cdot 10^{-4} \times 20 \cdot 10^{-4} = 2 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2$

L'addition des surfaces nous donne alors une surface totale S_{tot} :

$S_{\text{tot}} = S_{\text{cercle}} + S_{\text{rectangle}} = 3,14 \cdot 10^{-6} + 2 \cdot 10^{-6} = 5,14 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 = 514 \mu\text{m}^2$

Nous avons appliqué une intensité de $-0,4 \mu\text{A}$ pendant 50 s pour une chacune des électrodes de $514 \mu\text{m}^2$ de surface, ce qui correspond à une charge de $3,9 \text{ C/cm}^2$ selon la formule suivante :

$Q = I \times t$ ou $I = Q/t$ avec Q , la quantité de charge traversant la surface S par unité de temps ;
 I l'intensité électrique en ampère et t , le temps en seconde.

$Q = 50\text{s} \times (0,4 \cdot 10^{-6} \text{ A}) / (5,14 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2) = 3,9 \text{ C/cm}^2$

5.1.2 Montage et protocole

Le protocole de dépôt et de mesure des électrodes ont été réalisés selon 2.2.1. Le montage de la mesure dans le PBS et de l'électrodéposition est illustré sur la Figure 61. Pour chacune des électrodes, une intensité de courant de $-0,4 \mu\text{A}$ est appliquée pendant 50 s si l'impédance mesurée est supérieure à $300 \text{ k}\Omega$ pour des fourchettes en verre et en silicium. Nous avons choisi une impédance initiale inférieure à $300 \text{ k}\Omega$ ce qui est une valeur correcte pour détecter et mesurer des activités biologiques.

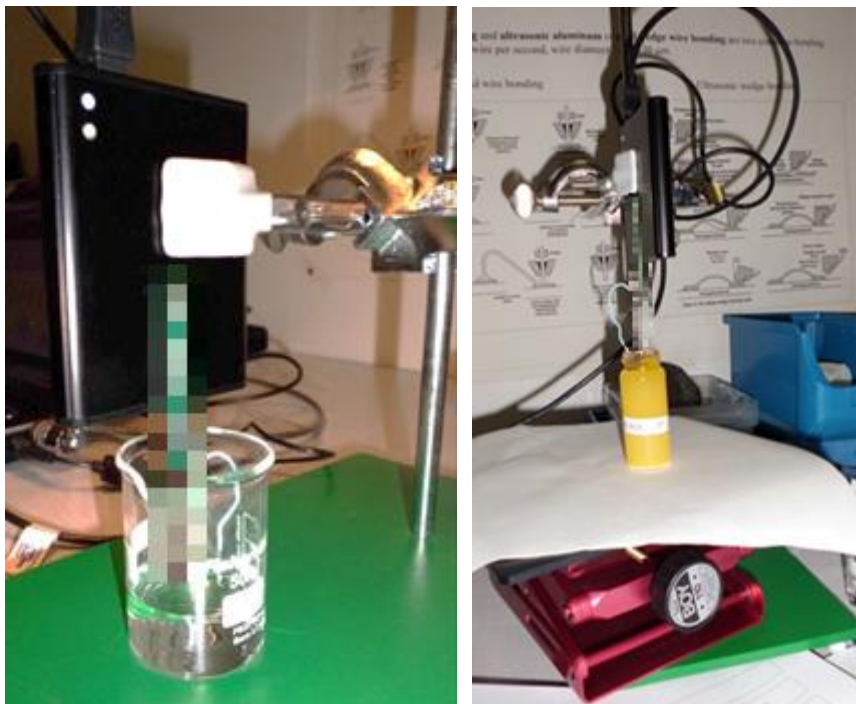


Figure 61 - Montage de la mesure dans le PBS (gauche) et de l'électrodéposition de platine noir (droite).

L'aspect du platine noir obtenu est bien conforme à ceux cités et décrits dans la littérature. On peut également remarquer que sur les bords, il y a un plus gros agglomérat de platine noir qu'au centre de l'électrode (Figure 62). Cela peut s'expliquer par l'effet de bord où la densité de courant est toujours plus élevée aux extrémités qu'au centre de l'électrode.

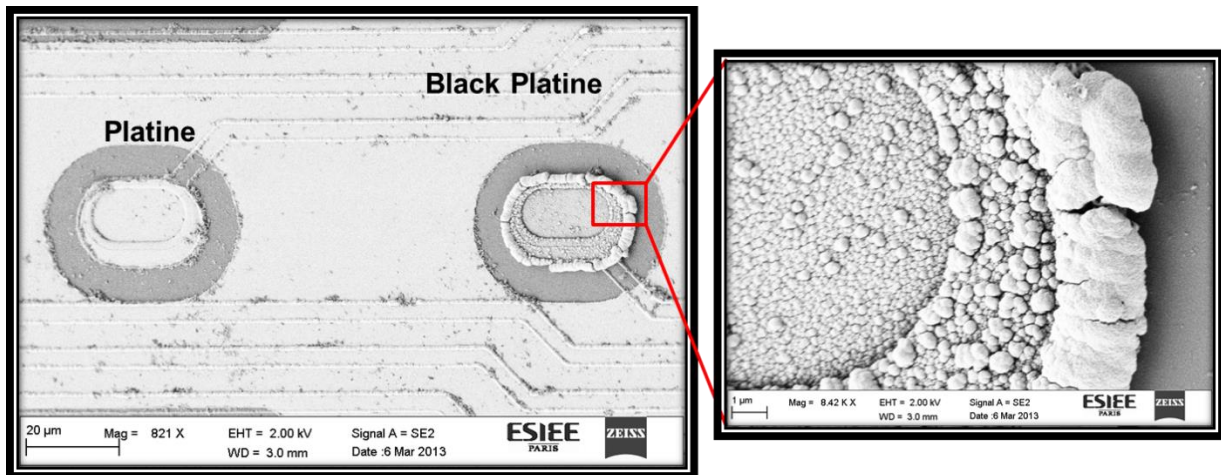


Figure 62 - Electrodes d'une fourchette avec une électrode en platine et une électrode en platine noir électrodéposé et son zoom.

5.1.3 Mesures d'impédance

Les différentes mesures sont effectuées selon le protocole décrit en §1.2. Les valeurs des impédances et des phases avant et après électrodéposition du platine noir sont regroupées dans le Tableau 6. On peut noter que les impédances relevées pour des électrodes en platine sur les substrats en verre sont plus élevées que celles en silicium, ce qui est similaire pour les MEA commerciales [108].

Type de fourchette	Silicium	Verre
Avant dépôt de platine noir		
Module	766 kΩ	1,139 MΩ
Phase	-80,9°	-82,6°
Après dépôt de platine noir		
Module	135 kΩ	52 kΩ
Phase	-50,7°	-34,5°

Tableau 6 - Mesures d'impédances des fourchettes MEA (moyenne pour 7 fourchettes, soit 448 électrodes pour les fourchettes en silicium et 5 fourchettes en verre soit 320 électrodes)

Chacune de nos électrodes des fourchettes en verre et des fourchettes en silicium (avant dépôt de platine noir) a une surface de $514 \mu\text{m}^2$ pour une impédance respective de 1,139 MΩ et de 766 kΩ. En comparant avec celle d'une MEA commerciale Qwane en verre dont la surface de l'électrode est plus de 2,4 fois plus grande ($1256 \mu\text{m}^2$), on a une impédance respective de 500-700 kΩ et de 400-600 kΩ, ce qui est tout à fait correct. Les phases des fourchettes sont proche de -90° ce qui témoigne de la valeur capacitive des électrodes.

Les épaisseurs des dépôts de nitrure de silicium varient selon les lots de substrats et bien que la couche de nitrure de silicium pour l'ouverture des électrodes sur les substrats en verre ait été sur-gravée, il resterait néanmoins un mince film de nitrure de silicium ce qui expliquerait l'impédance élevée de ces fourchettes en verre comparée à celle des fourchettes sur silicium.

Cette couche de nitrure restante réduirait la quantité du dépôt de platine noir sur les électrodes. Des investigations supplémentaires restent à faire pour confirmer cette hypothèse.

On remarque qu'après l'électrodéposition de platine noir, les impédances des fourchettes en silicium et en verre sont respectivement diminuées d'environ 82% et 95 % soit un facteur 6 et 22. Cette réduction d'impédance d'un facteur de 6 pour les fourchettes en silicium est proche de celle rencontrée dans la littérature d'un facteur 10 [109] ou de 85% [91]. Après électrodéposition, la phase obtenue augmente: elle est de $-50,7^\circ$ pour les fourchettes en silicium et $-34,5^\circ$ pour les fourchettes en verre. La raison pour laquelle l'interface est moins capacitive après l'électrodéposition reste encore indéterminée.

6. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons développé et réalisé deux types de MEA rigides à savoir des MEA planaires à 60 voies en platine et en diamant pour des applications in-vitro et des MEA fourchettes en platine sur silicium et sur verre pour tester une nouvelle stratégie de réhabilitation motrice.

Le procédé de fabrication des MEA en diamant apporte une innovation par rapport à celui des MEA planaires en platine du point de vue de l'intégration du matériau diamant aux étapes de microfabrication standard qui n'était pas évidente du fait des températures élevées requises pour sa croissance. Le développement de cette nouvelle technologie pour réaliser des MEA avec des électrodes en diamant dopé nous a permis de définir des motifs en diamant (micro-électrodes) avec un équipement de procédé classique (RIE). Il peut réduire le temps de production. De plus, la nécessité d'utiliser de petites électrodes introduit un risque supplémentaire de dégrader les tissus et les électrodes en injectant des densités de charges plus importantes. Il est donc essentiel d'utiliser des matériaux présentant de grandes limites en injection de charge tels que le diamant. Les caractérisations morphologique et électrochimique des électrodes ne montrant pas de dégradation à la surface et une fenêtre de potentiel large ouvrent la voie pour une durée de vie longue et stable des MEA.

Quant au procédé de fabrication des MEA fourchettes, le défi par rapport aux MEA classiques était de leur donner leur forme de dents pénétrantes. Pour les MEA fourchettes en silicium, l'utilisation de substrat SOI a permis d'obtenir ces dents. Cependant pour celles en verre, les tests de gravure humide effectués dans l'acide fluorhydrique (HF 50%) sur du verre avec un masque en or ne sont pas concluants. La gravure du verre en GDRIE combinée à la gravure humide est prometteuse mais nécessite encore des développements.

Les prochaines étapes de travail avec ces MEA seront leur test à travers des expériences biologiques que nous verrons dans le Chapitre 4.

Toutes ces MEA du fait de leur rigidité ne sont pas facilement compatibles en milieu biologique in-vivo. En réadaptant les procédés de fabrication pour remplacer le substrat en silicium par du substrat en polymère, il est possible de réaliser des MEA souples. Nous en verrons un exemple dans le Chapitre 3 avec la réalisation d'implants rétiniens.

Chapitre 3 : Développement, réalisation et caractérisations électrochimiques de MEA souples

Nous nous intéressons dans ce chapitre au développement et à la réalisation des MEA souples et plus particulièrement à la fabrication des implants rétiniens. Dans un premier temps, le travail passe par une étape de modélisation des électrodes pour aider à la conception de nouvelles structures de MEA. Dans un second temps, nous verrons les procédés de fabrication des implants rétiniens permettant une meilleure focalisation du champ électrique avec deux matériaux d'électrodes, en métal (platine noir) et en diamant dopé. Nous détaillerons les solutions envisagées pour une structure planaire puis tridimensionnelle.

1. Concept des implants rétiniens

Nous avons choisi de débiter avec une structure d'implant rétinien composée d'une tête de 1 mm de diamètre constituée de 4 électrodes (2 électrodes de 30 μm et 2 électrodes de 60 μm de diamètre) entourées d'une grille de masse, de pistes de plus de 3 cm reliant chaque électrode à leur plot de contact (Figure 63).

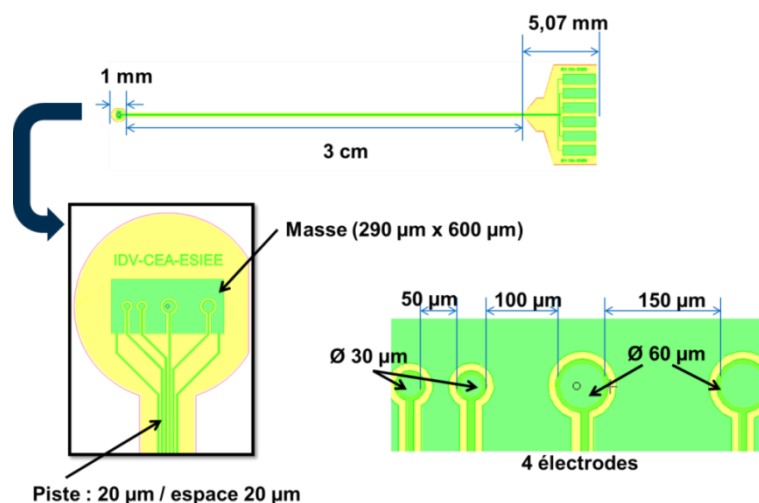


Figure 63 – Design d'implant rétinien à 4 électrodes

Les dimensions de l'implant ont été déterminées pour être en adéquation avec les expériences in-vivo dans le petit animal où nous avons choisi l'approche sous-rétinienne. Ce premier prototype contribuera à valider les différentes étapes de fabrication mais aussi à stabiliser les chirurgies oculaires chez le rat.

Les implants rétiniens sont composés d'une couche métallique pour constituer les pistes, la grille de masse, les plots de contacts et les électrodes (excepté pour les électrodes en diamant dont leur procédé spécifique de fabrication sera détaillé plus loin) entre deux couches de polymère dont les électrodes, la grille de masse et plots de contacts sont exposés.

Nous avons choisi d'utiliser comme substrat souple, le polyimide 2611 (de Pyralin, HD Microsystems). Bien que peu d'études aient été menées sur la dégradation sur le long terme du polyimide (PI) en milieu biologique, celui-ci a été prouvé biocompatible par plusieurs expériences ([110], [111]) même si leur fabricant décline toutes responsabilités de leur utilisation dans des applications médicales. De plus, le PI ne présente aucune défaillance électrique lorsqu'il est utilisé en tant qu'isolant et est considéré comme stable in-vitro sur le long terme [112].

Comme nous avons vu dans le Chapitre 1, une grande densité d'électrodes n'est pas toujours synonyme de bonne résolution. Un des problèmes que nous tentons de résoudre dans les parties suivantes est la stimulation restreinte d'un groupe de cellules rétiniennes en ajoutant une grille de masse qui entoure chaque électrode de stimulation et qui collecterait plus rapidement le retour du courant ce qui conduirait à une stimulation plus locale et par conséquent à une meilleure résolution. Nous verrons également pourquoi le développement de géométries tridimensionnelles contribuerait également à cette amélioration à travers la modélisation.

2. Simulation avec COMSOL

L'objectif des simulations est de pouvoir comparer et observer le déplacement des charges au sein de différentes structures géométriques (planaire et tridimensionnelle) d'électrode dans du liquide physiologique. Le cas sera limité à l'exemple d'un implant rétinien simulé en structure planaire puis en structure tridimensionnelle (sous forme de cuvette).

2.1 Présentation rapide du logiciel

Nous avons utilisé une version d'essai d'un logiciel de simulation numérique Comsol Multiphysics 4.2a[®] basé sur la méthode de résolution par éléments finis. Ce logiciel a un couplage de différents modules multiphysiques et possède des bibliothèques de modèles pré-définis. La résolution d'un problème va suivre les étapes suivantes :

- Choix des modules de physiques
- Création de la géométrie des électrodes
- Choix du maillage
- Résolution numérique
- Interprétation des résultats

Nous avons souhaité modéliser de façon intuitive le modèle d'électrode qui nous permettra d'améliorer la stimulation rétinienne mais aussi de comprendre les mécanismes physiques mis en jeu.

2.2 Construction du modèle

Nous avons développé un modèle pour simuler la distribution du potentiel résultant d'une source de courant connectée à une électrode de MEA et immergée dans un bain de liquide physiologique. Les électrodes utilisées pour la stimulation électrique sont toujours placées dans une solution conductrice, c'est pourquoi il est essentiel de comprendre comment les courants et les champs électriques sont distribués. Les calculs de densité de courant et des champs électriques peuvent être plus faciles lorsqu'on est dans un milieu dont la conductivité est homogène et isotrope. En effet, la rétine est un tissu hétérogène comme on le voit sur la Figure 64 où diverses couches de cellules présentent différentes résistivités. Etant donné que nous avons choisi une approche sous-rétinienne, les électrodes iront stimuler des cellules bipolaires. La résistivité qui devra être choisie pour la simulation sera donc celle des cellules bipolaires avec une résistivité de $6800 \Omega \cdot \text{cm}$, soit une conductivité de $1,47 \cdot 10^{-2} \text{ S/m}$.

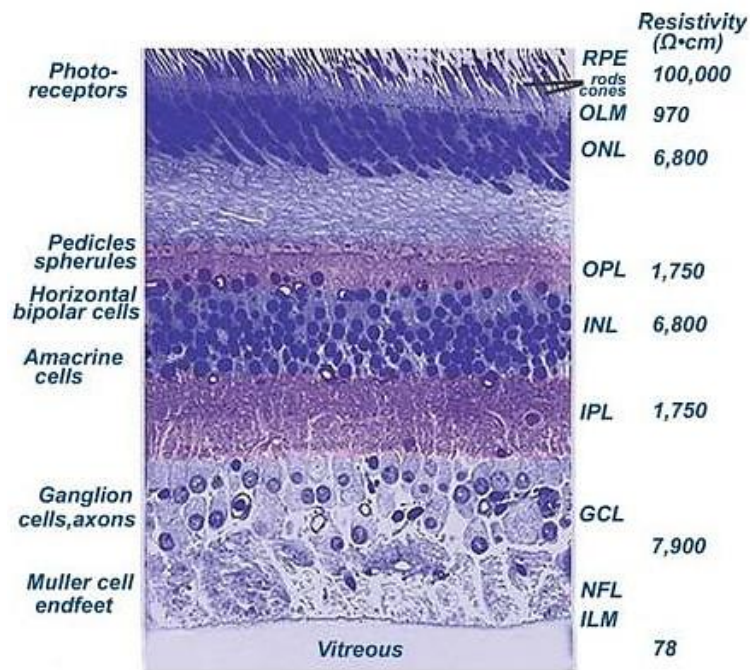


Figure 64 - La structure en couche de la rétine humaine et les cellules rétiniennes neuronales avec leur résistivité [5]

2.2.1 Physiques utilisées

Le champ électrique généré par une électrode au sein d'une solution conductrice peut être calculé en résolvant les équations de Maxwell [113].

Conservation de la charge électrique :

$$\nabla \cdot \mathbf{J} = 0 \quad (7)$$

Loi de Gauss :

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = \rho / \epsilon \quad (8)$$

Dans les études de biophysique sur le tissu excitable, le volume du milieu conducteur est caractérisé comme résistif. Le champ électrique E , est par conséquent associé à un courant de densité J qui sont reliés par la loi d'Ohm :

$$\mathbf{J} = \sigma \cdot \mathbf{E} \quad (9)$$

Champ électrique :

$$\mathbf{E} = -\nabla \cdot \phi \quad (10)$$

Où J est la densité de courant (A/m^2) défini comme le courant traversant une certaine surface ; E représente le champ électrique (V/m); ρ est la densité volumique de charge (C/m^3) ; ϵ est la permittivité du milieu ; σ est la conductivité du milieu (S/m) et φ est le potentiel électrique (V).

2.2.2 Définition du modèle

Le modèle étudié dans un premier temps est une boîte remplie de liquide physiologique contenant 4 électrodes entourées d'une grille de masse posées sur du polyimide, un substrat diélectrique. La boîte a les côtés isolés et le fond de la boîte est mis à la masse (0V) lorsqu'il n'y a pas de plan de masse utilisé dans la simulation (Figure 65).

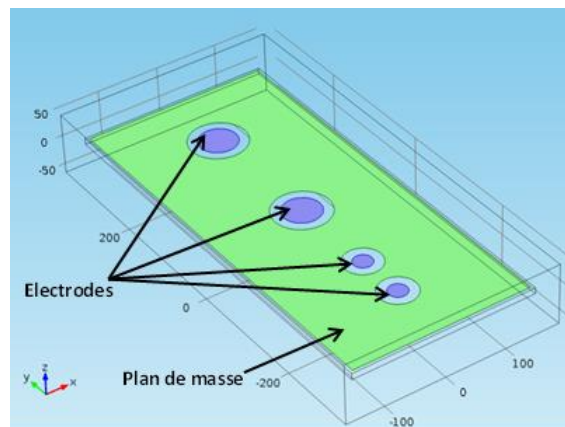


Figure 65 - Simulation de 4 électrodes entourées d'une grille de masse posées sur un substrat polyimide dans une boîte de liquide physiologique

Nous avons choisi le module électrique "electric current" en mode stationnaire, puis construit la géométrie de nos électrodes soit des cylindres de deux diamètres, 30 et 60 μm (organisés selon le design de l'implant vu précédemment sur la Figure 63) et d'une hauteur de 150 nm. Ensuite nous avons choisi matériau pour nos électrodes du platine. Le type de maillage employé est le Free Tetrahedral fin compte tenu des faibles épaisseurs simulées.

2.2.3 Courant d'injection des électrodes

La détermination de la densité de charge qui sera appliquée aux électrodes est importante puisque des impulsions de courant induisant des potentiels d'électrodes supérieurs à celui de l'hydrolyse de l'eau (réaction redox irréversible) risquent de causer des changements de pH qui pourraient dégrader les cultures et/ou endommager les électrodes par des réactions électrochimiques. Cependant la densité de charge doit être assez élevée pour susciter une stimulation des neurones rétiniens (0,01 mC/cm^2 [114]) et également sans risque de

destruction de ces cellules (1 mC/cm^2 au maximum [115], [116]) tout en étant inférieure à la limite d'électrolyse des électrodes ($0,4 \text{ mC/cm}^2$ pour le platine [117]). Ayant peu d'essais cliniques sur des humains, la plupart de ces données sont issus d'expériences réalisées sur des rétines d'animaux tels que le rat ou le lapin.

Les paramètres pour une stimulation suffisante et sans risque pour la rétine correspondent à une densité de courant minimale de $0,01 \text{ A/cm}^2$ avec une durée d'impulsion de 1 ms [114] et une densité de courant maximale de 1 A/cm^2 (densité de charge maximale de 1 mC/cm^2). Nous avons ainsi appliqué un courant de $5 \text{ nA}/\mu\text{m}^2$ (soit 5000 A/m^2 dans le logiciel) à la surface des électrodes.

2.3 Résultats préliminaires en liquide physiologique

On peut observer que contrairement aux électrodes planaires sans plan de masse (Figure 67), la distribution du courant des électrodes entourées d'un plan de masse (Figure 66) est moins diffuse et plus confinée au niveau de celles-ci.

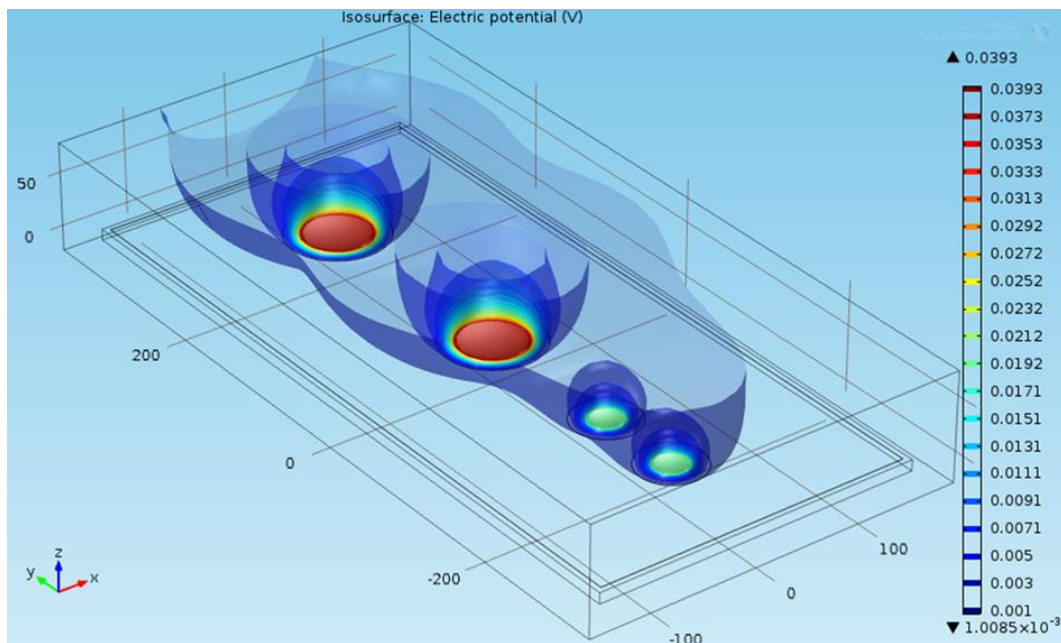


Figure 66 - Simulation de 4 électrodes planaires avec un plan de masse

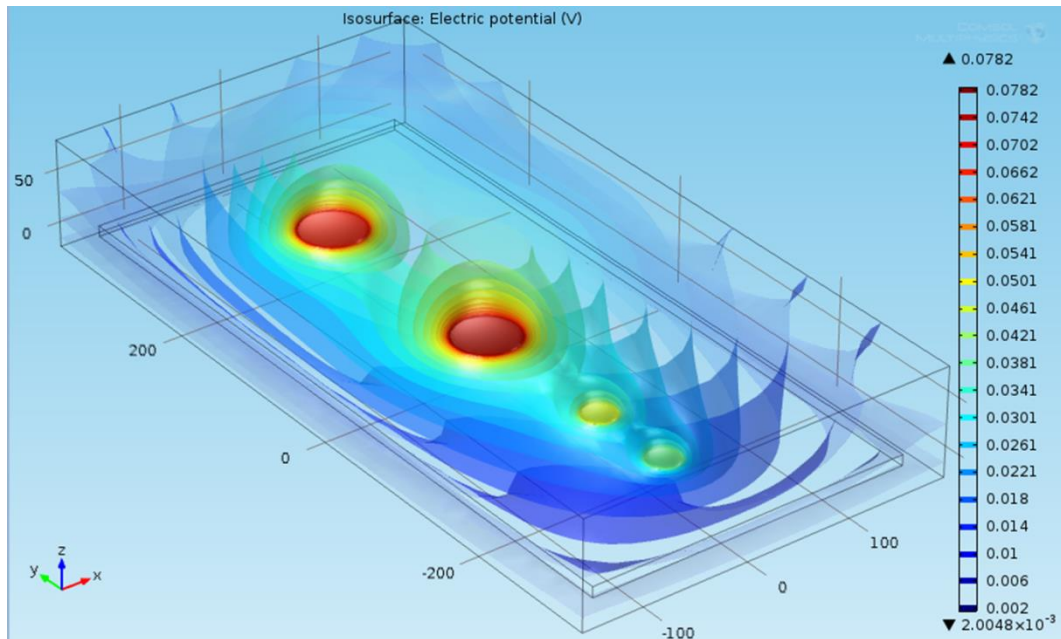


Figure 67 - Simulation de 4 électrodes planaires sans plan de masse

Le temps de simulation étant assez long pour les quatre électrodes, nous avons préféré par la suite simuler différentes structures avec une demi-électrode de 40 μm et effectué une révolution 2D afin d'obtenir une vue tridimensionnelle de l'électrode. Les axes en abscisse et en ordonnée des figures sont en micromètres.

Dans un premier temps, nous avons observé l'influence de la taille de la masse sur l'évolution du potentiel et de la distribution du champ électrique (Figure 68). En faisant varier la largeur de la masse (10, 20, 30 et 40 μm), on remarque que plus le plan de masse est large, plus le potentiel au niveau de l'électrode est faible. En effet **avec une grande masse, nous aurions un plus grand retour du courant.**

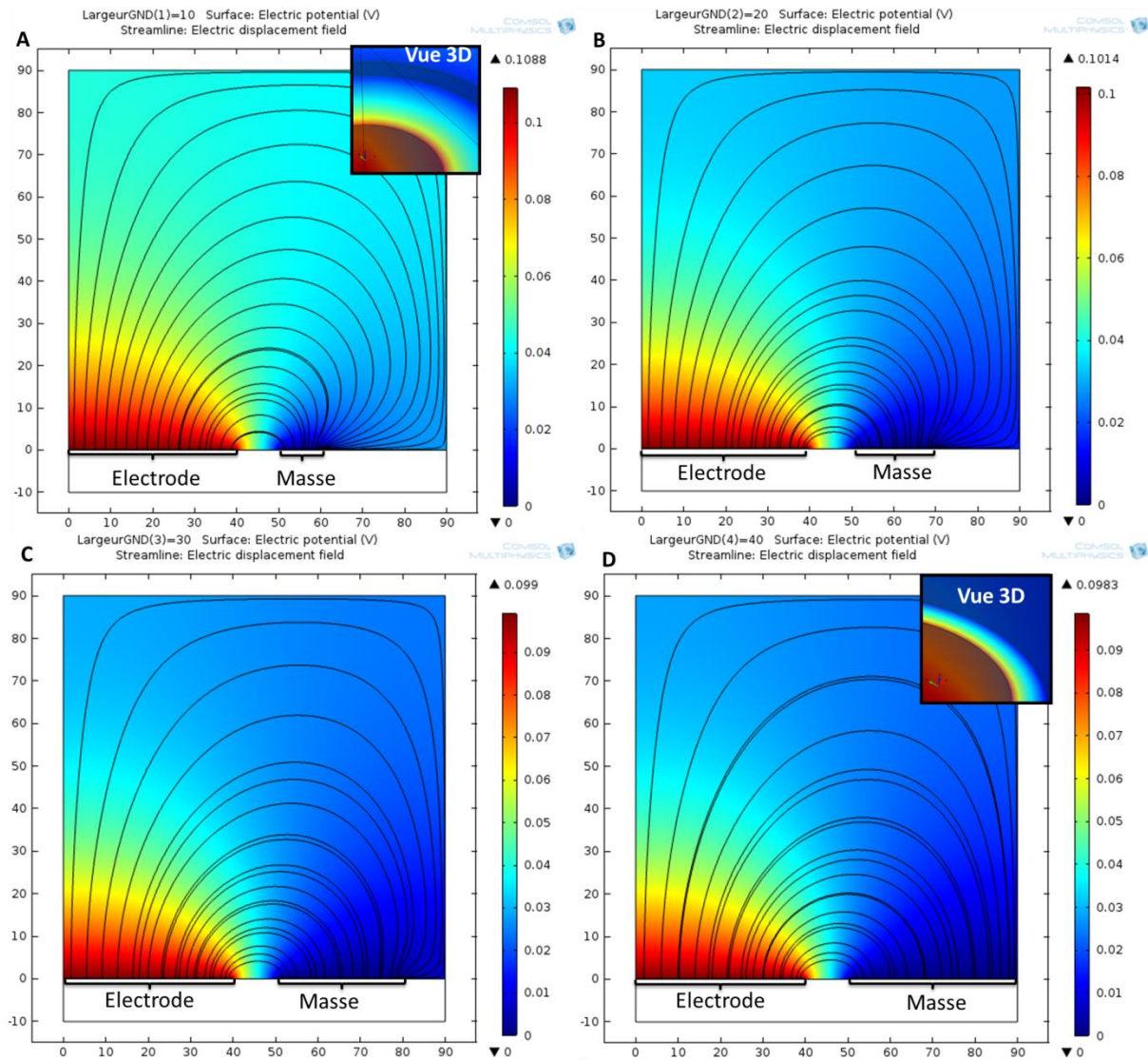


Figure 68 - Evolution du potentiel électrique et de la distribution du champ électrique dans une structure planaire en fonction de la variation de la taille du plan de masse : 10 μm (A), 20 μm (B), 30 μm (C) et 40 μm (D)

Parallèlement, nous avons également regardé l'influence de la distance entre l'électrode et la masse avec une largeur de masse constante de 10 μm (Figure 69). Nous avons fait varier la distance de 5, 10, 20 et 30 μm et constaté que plus le plan de masse se rapproche des électrodes, plus le potentiel maximal au niveau de l'électrode diminue. **La proximité du plan de masse avec l'électrode assurerait un retour du courant plus rapide et donc, l'accumulation de charges dans le milieu.**

Il est donc important d'avoir un plan de masse assez large et proche de l'électrode qui permettrait un confinement du courant (objectif visé pour une stimulation locale). Ces

résultats sont en accord avec les travaux antérieurs de S. Joucla [118] à l'INICIA. En revanche, plus la taille de la masse sera grande et moins la densité des électrodes sera importante.

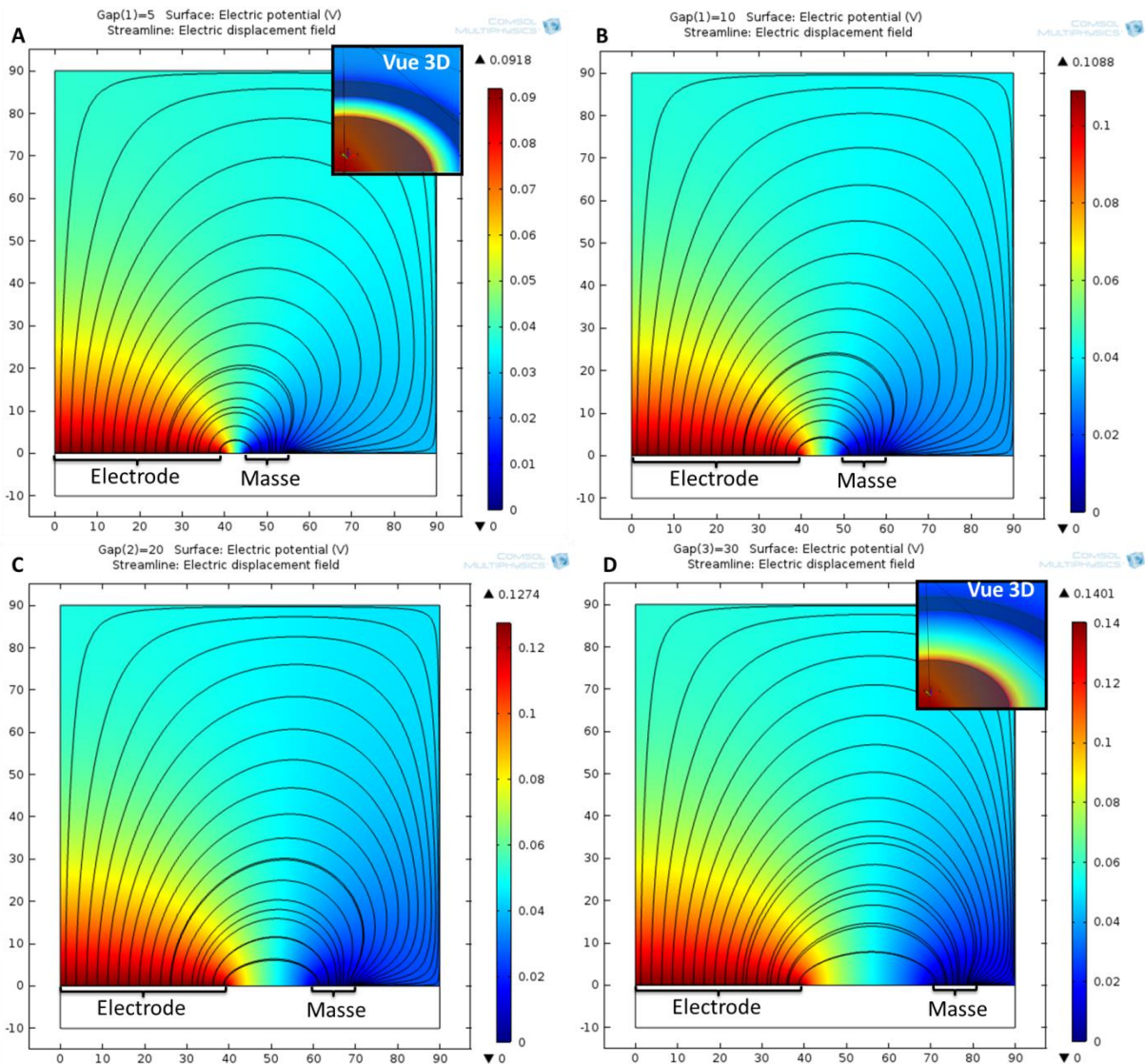


Figure 69 - Evolution du potentiel électrique et de la distribution du champ électrique dans une structure planaire en fonction de la distance électrode-masse : 5 μm (A), 10 μm (B), 20 μm (C) et 30 μm (D)

Une autre étude réalisée par notre partenaire à l'IDV [53], montre qu'avec des structures tridimensionnelles en forme de cuvette entourée d'un plan de masse, la stimulation électrique ainsi que la distribution du courant seront plus focalisées que pour une structure planaire (Figure 70 - A). Ici, nous utilisons le logiciel Comsol pour confirmer ces précédents travaux avec en faisant varier la profondeur des puits de 10 μm à 30 μm entourée d'un plan de masse (Figure 70 - B à D) de 40 μm de large. Cette structure 3D contribuerait à améliorer la

résolution spatiale (lors des stimulations) mais aussi à stabiliser l'implant in-vivo ce qui améliore le contact avec les cellules et leur intégration au tissu.

En observant le potentiel électrique qui représente la quantité de charge présente en un point, on peut voir que plus le plan de masse est placé en hauteur par rapport à l'électrode (plusieurs dizaines de microns de haut), plus le potentiel au niveau de l'électrode est élevée puisque les charges se dissiperont plus difficilement (vu précédemment). On observe également que la distribution du potentiel est plus homogène avec une structure tridimensionnelle pour des dimensions importantes qu'avec une structure planaire. En effet, plus la cuvette est profonde, plus son gradient de potentiel est homogène entre le centre et le bord de l'électrode. On peut constater dans le Tableau 7, pour une cuvette profonde de 30 μm le potentiel du centre (98 mV) et du bord (95 mV) de l'électrode à une hauteur de 15 μm étaient quasi-identiques. Ces **structures tridimensionnelles permettent d'obtenir un confinement et une homogénéité du potentiel électrique au sein de la structure tridimensionnelle**, critères intéressants pour bien stimuler localement les tissus ce qui permettrait d'augmenter la résolution des implants.

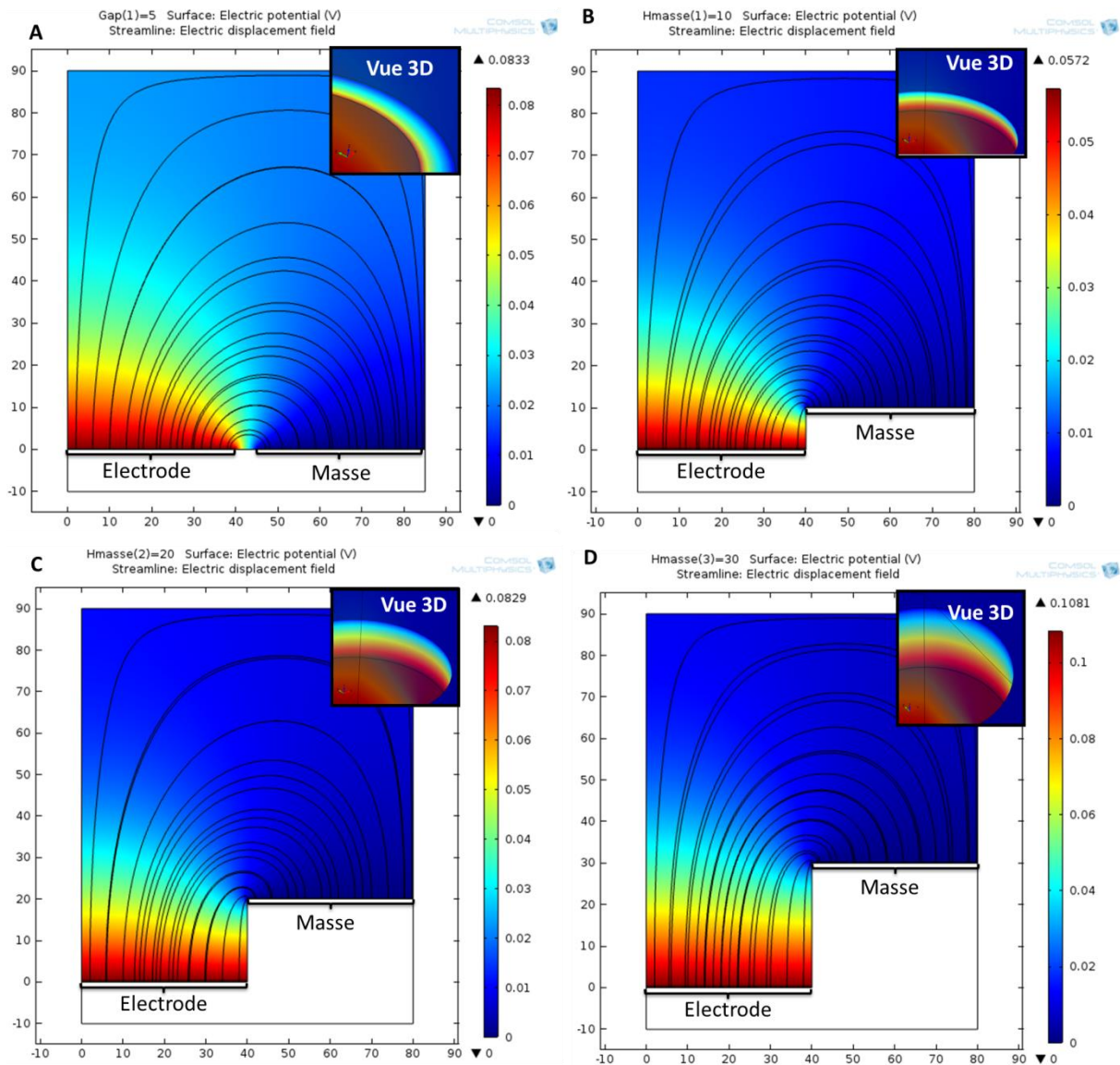


Figure 70 – Evolution du potentiel électrique et de la distribution du champ électrique dans une structure en forme de cuvette en fonction de différentes profondeurs : aucune profondeur (A), 10 μm (B), 20 μm (C) et 30 μm (D)

Structure d'électrode	Potentiel au centre de l'électrode	Potentiel au bord de l'électrode
A	69 mV	45 mV
B	36 mV	10 mV
C	54 mV	36 mV
D	98 mV	95 mV

Tableau 7 – Potentiel au centre ($x=0 \mu\text{m}$) et au bord ($x=40 \mu\text{m}$) de l'électrode en $y=15 \mu\text{m}$ de différentes profondeurs de cuvette : aucune profondeur (A), 10 μm (B), 20 μm (C) et 30 μm (D)

Basés sur les travaux de l'INICIA et de l'IDV, nous avons réalisé des implants rétiniens avec ces structures en forme de cuvette qui seront abordés plus loin dans ce chapitre.

Suite à ces premières simulations, nous avons envisagé d'autres structures tridimensionnelles telles qu'un anneau (ou pilier) isolant ou conducteur autour de l'électrode pour voir la distribution du champ de potentiel.

Nous avons simulé une électrode entourée d'un anneau (ou d'un pilier) isolant de 10 μm de large avec un plan de masse de 40 μm de large et fait varier la hauteur de l'anneau (ou du pilier) de 0, 10, 20 et 30 μm (Figure 71). La distribution du champ électrique est similaire à la structure en forme de cuvette avec un gradient de potentiel homogène entre le centre et le bord de l'électrode pour des anneaux (ou des piliers) hauts (Tableau 8). Cependant, le potentiel de l'électrode est environ 1,5 fois plus élevé avec cette structure que celle en cuvette (avec une densité de charge identique pour les électrodes des deux structures). Un potentiel plus élevée s'avérait plus intéressant pour une stimuler le tissu pour une même densité de courant injecté à l'électrode. Bien que cette configuration soit meilleure de ce point de vue, elle est au détriment du gain de place puisqu'on doit avoir un plan de masse en plus. Nous avons donc simulé une autre forme tridimensionnelle en intégrant la masse au pilier pour gagner en place.

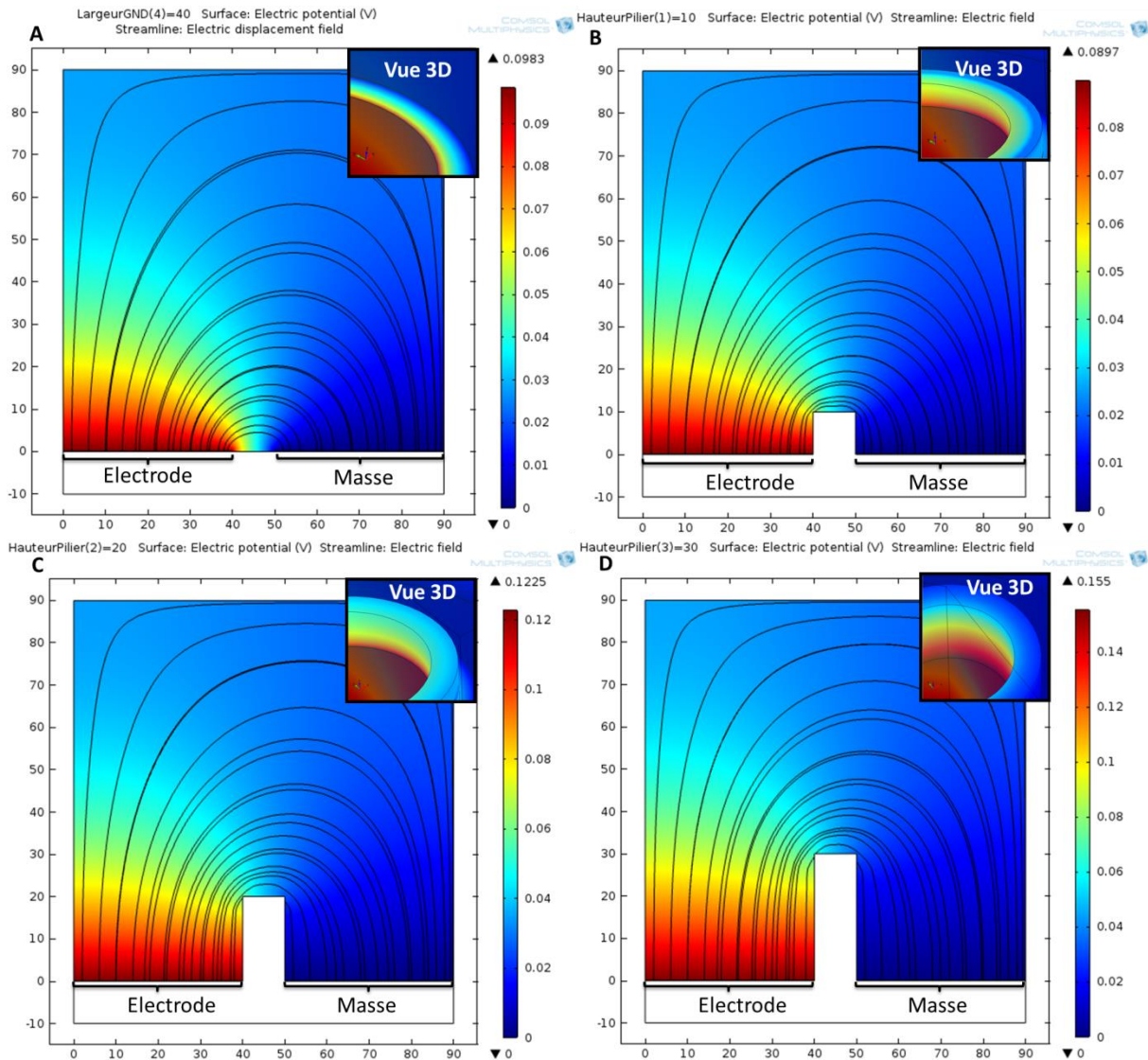


Figure 71 - Evolution du potentiel électrique et de la distribution du champ électrique dans une structure avec différentes hauteurs de pilier isolant : aucun pilier (A), 10 μm (B), 20 μm (C) et 30 μm (D)

Structure d'électrode	Potentiel au centre de l'électrode	Potentiel au bord de l'électrode
A	83 mV	57 mV
B	65 mV	42 mV
C	91 mV	80 mV
D	152 mV	150 mV

Tableau 8 – Potentiel au centre ($x=0 \mu\text{m}$) et au bord ($x=40 \mu\text{m}$) de l'électrode en $y=15 \mu\text{m}$ de différentes hauteurs de pilier isolant : aucun pilier (A), 10 μm (B), 20 μm (C) et 30 μm (D)

Nous avons alors simulé une électrode entourée d'un anneau (ou d'un pilier) dont leurs côtés et leurs sommets ont été mis à la masse et fait varier la hauteur de l'anneau (ou du pilier) (Figure 72). Avec un anneau (ou pilier) mis à la masse, le gradient potentiel issu de l'électrode semble moins homogène horizontalement au sein de la cuvette. De plus, le potentiel maximal issu de l'électrode est plus faible que les autres structures étant donné que le plan de masse entoure l'électrode. Cela reviendrait à une distribution du potentiel dans une configuration plane, ce qui serait moins intéressant pour la stimulation.

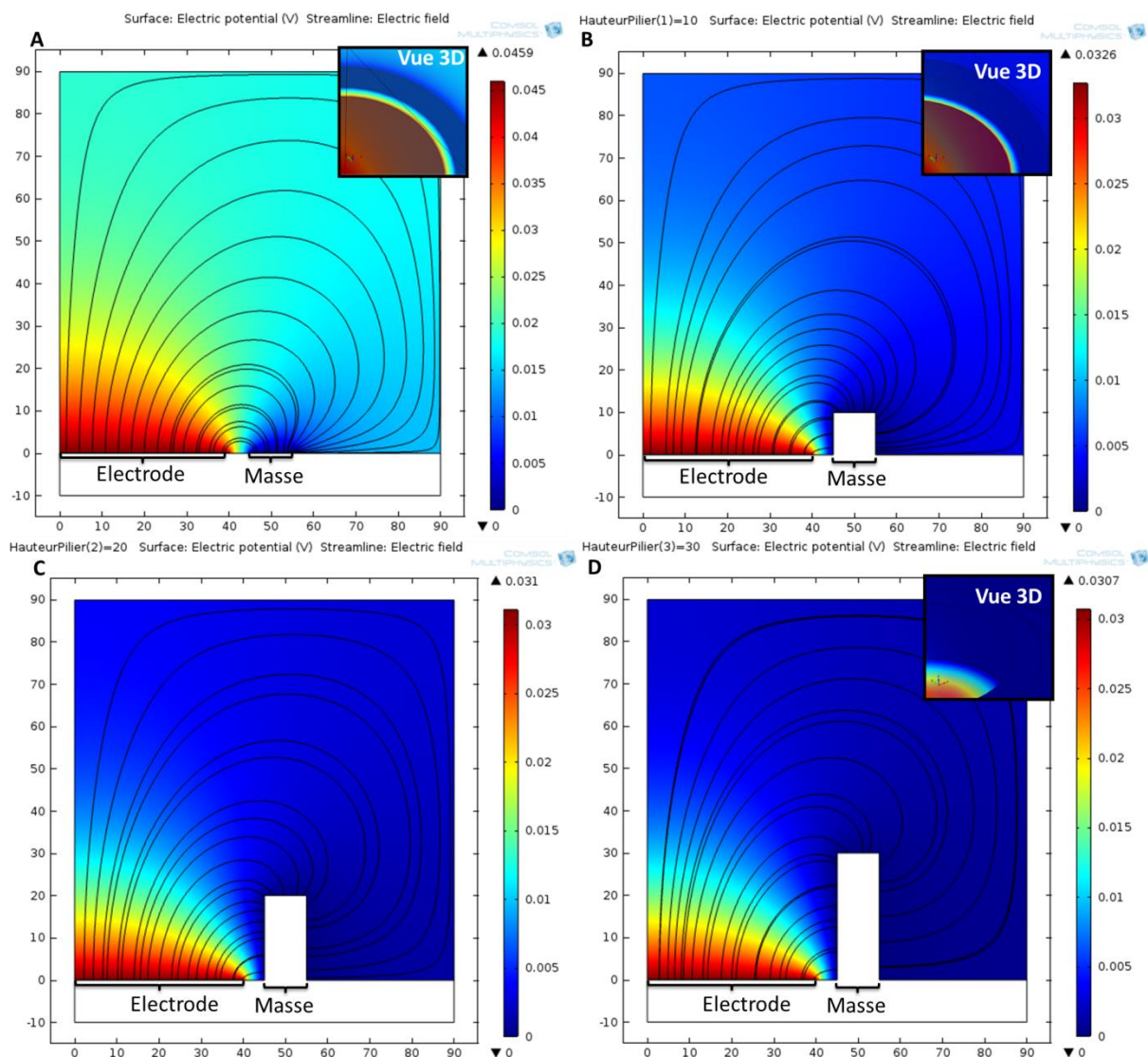


Figure 72 - Evolution du potentiel électrique et de la distribution du champ électrique en fonction de différentes hauteurs de pilier dont toutes ses faces sont mises à la masse : aucun pilier (A), 10 μm (B), 20 μm (C) et 30 μm (D)

Structure d'électrode	Potentiel au centre de l'électrode	Potentiel au bord de l'électrode
A	69 mV	45 mV
B	21 mV	8 mV
C	19 mV	5 mV
D	18 mV	5 mV

Tableau 9 – Potentiel au centre ($x=0 \mu\text{m}$) et au bord ($x=40 \mu\text{m}$) de l'électrode en $y=15 \mu\text{m}$ de différentes hauteurs de pilier dont toutes ses faces sont mises à la masse : aucun pilier (A), $10 \mu\text{m}$ (B), $20 \mu\text{m}$ (C) et $30 \mu\text{m}$ (D)

Une autre configuration consisterait à seulement mettre le sommet de l'anneau (ou du pilier) à la masse et dans ce cas, nous nous retrouverons dans la même configuration que les cuvettes.

2.4 Récapitulatif

En se basant sur les travaux antérieurs, la stimulation d'électrodes avec un plan de masse et avec une structure tridimensionnelle nous permet d'obtenir une stimulation plus focale. Les simulations nous montrent que l'importance du confinement du courant et le potentiel au niveau de l'électrode dépend de la taille du plan de masse, de sa proximité à l'électrode et de son positionnement par rapport à l'électrode. Une stimulation doit être suffisante (c'est-à-dire un potentiel d'électrode élevé au niveau des électrodes, et mais aussi localisée (au moyen d'un plan de masse) pour stimuler efficacement et spécifiquement une zone du tissu. Un récapitulatif des potentiels d'électrodes maximales est regroupé dans le Tableau 10 et des potentiels au centre et au bord à une hauteur de $15 \mu\text{m}$, dans le Tableau 11. Une structure en forme de cuvette (configuration d'électrode n°1) permet d'atteindre cette stimulation avec un **potentiel élevé au niveau de l'électrode** et un **champ de potentiel homogène au sein de la cuvette** contrairement aux autres configurations. Cette configuration offre la possibilité (tout en conservant une stimulation localisée) d'obtenir des implants hautes densités en limitant le pas inter-électrode contrairement à la configuration 2 avec un anneau isolant. La réalisation des structures tridimensionnelles des implants rétiniens tendrait donc vers cette configuration d'électrode n°1 (Figure 73).

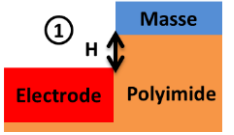
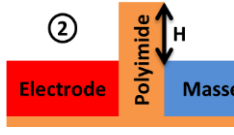
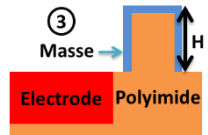
Configuration d'électrode			
Variation de la hauteur (H)	Potentiel d'électrode maximal (mV)		
0 μm	/	98,3	45,9
10 μm	57,2	89,7	32,6
20 μm	82,9	122,5	31
30 μm	108,1	155	30,7

Tableau 10 – Potentiels d'électrodes maximales pour différentes structures

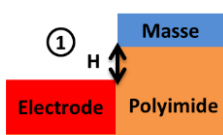
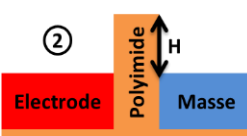
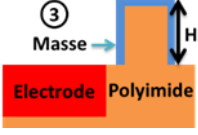
Configuration d'électrode	Variation de H	Potentiel au centre de l'électrode	Potentiel au bord de l'électrode
	0 μm	69 mV	45 mV
	10 μm	36 mV	10 mV
	20 μm	54 mV	36 mV
	30 μm	98 mV	95 mV
	0 μm	83 mV	57 mV
	10 μm	65 mV	42 mV
	20 μm	91 mV	80 mV
	30 μm	152 mV	150 mV
	0 μm	69 mV	45 mV
	10 μm	21 mV	8 mV
	20 μm	19 mV	5 mV
	30 μm	18 mV	5 mV

Tableau 11 – Potentiel au centre ($x=0 \mu\text{m}$) et au bord ($x=40 \mu\text{m}$) de l'électrode en $y=15 \mu\text{m}$ de différentes configurations d'électrode

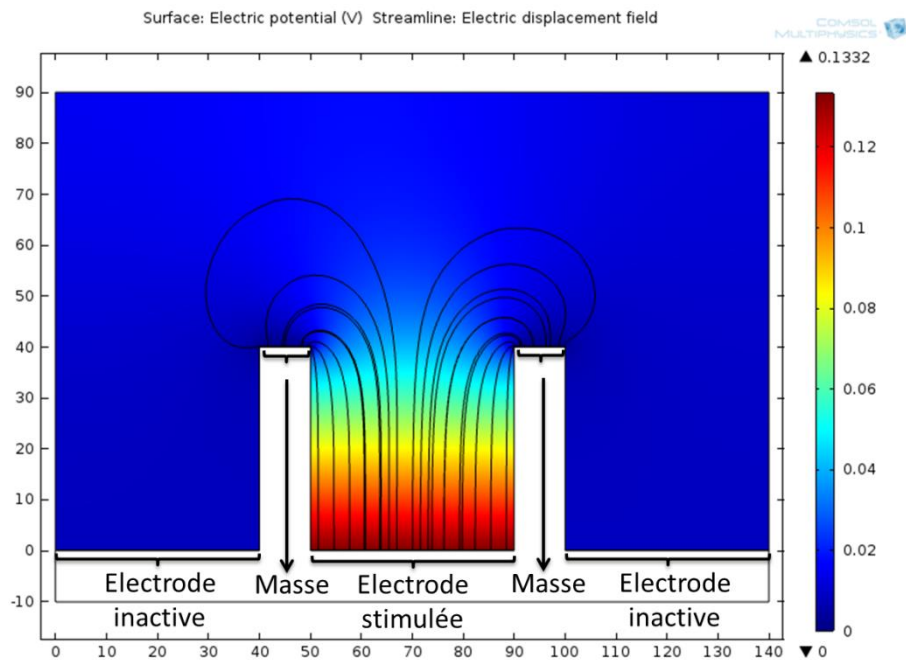


Figure 73 – Exemple de configuration d'électrode n°1

L'interface entre l'électrode métallique et le tissu qu'il stimule et/ou enregistre est généralement associée avec un important interstice liquide à travers lequel, le signal électrique doit être converti. Il faudra donc prendre en compte cette distance entre l'électrode et les cellules neurales qui est critique pour déterminer le seuil de charge requis pour l'activation des cellules. La limite de charge requise pour stimuler un neurone dépend donc de la distance de l'électrode avec les cellules à stimuler mais aussi de la taille de l'électrode [119]. Ainsi, d'autres simulations seraient intéressantes telles que la simulation avec une couche de neurones au-dessus de l'électrode en variant la distance entre l'électrode et les cellules pour déterminer le courant d'injection maximal.

Des travaux de simulation complémentaires tels que la détermination de la densité de courant maximale de différents matériaux (platine, or, le diamant dopé) pourraient être intéressants à effectuer pour être ensuite validés par l'expérience mais n'ont pas été abordés faute de temps.

Afin de valider expérimentalement ces simulations, il a fallu développer les différentes filières technologiques et les rendre compatibles avec les procédés de fabrication en salle blanche, notamment le dépôt de couches minces de diamant sur des substrats souples. Les différents procédés vont être détaillés dans les parties suivantes.

3. Implants rétiniens planaires

Nous verrons ici la réalisation de ces implants planaires avec différents procédés de fabrication selon deux types de matériaux d'électrodes, en métal (or ou platine) et diamant ainsi que les optimisations réalisées pour améliorer leur fabrication. La comparaison avec quelques procédés de fabrication dans la littérature sera également abordée.

3.1 Procédé de fabrication avec des électrodes en platine ou en or

Le procédé de fabrication des implants rétiniens planaires (Figure 74) intègre un polymère en vue d'obtenir des MEA sur des substrats souples, compatibles avec les expériences in-vivo. Cependant les implants rétiniens sont réalisés sur des plaquettes de silicium qui ne servent que de support physique pendant la microfabrication. C'est un procédé classique ([120], [121]) où un métal est structuré entre deux couche de polyimide et dont les contacts et électrodes sont exposés. Le détail du procédé de fabrication de nos implants est présenté en annexe p. 199 et les implants obtenus sont présentés en Figure 75.

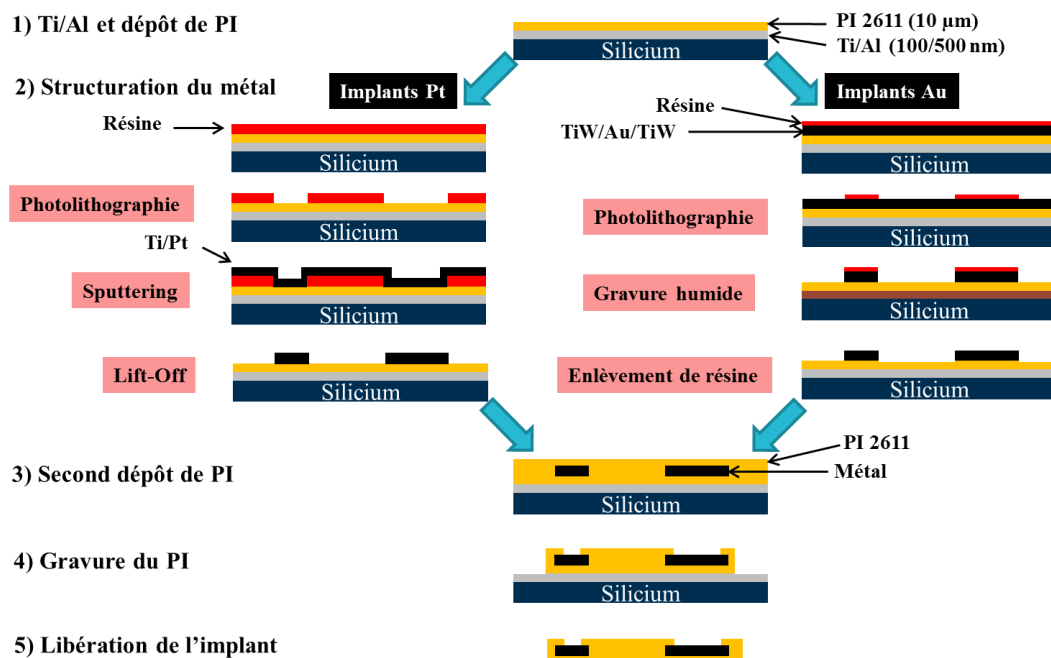


Figure 74 - Procédé de fabrication d'implants rétiniens planaire en platine ou en or

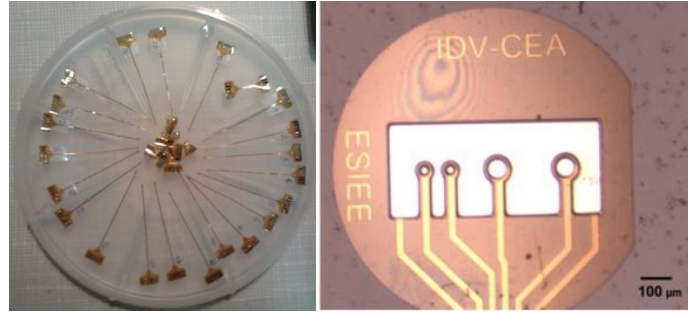


Figure 75 – Implants libérés dans une boîte 4" (gauche) et tête d'un implant avec ses 4 électrodes et sa grille de masse (droite).

Bien que la fabrication des implants fasse appel à des procédés de microfabrication classiques (photolithographie, lift-off, gravure chimique et physique) et semble simple, la réalisation des implants actuels n'aurait pas été possible sans de nombreux points optimisés que nous aborderons ci-après.

3.2 Les optimisations technologiques

3.2.1 Contraintes des matériaux

La contrainte mécanique des couches minces PI/métal [122] mais aussi PI/PI [123] est critique pour les implants rétiniens car d'elle dépend l'adhésion des matériaux. Ainsi, pour avoir une meilleure adhésion, l'objectif est d'avoir une contrainte mécanique la plus faible possible pour offrir des couches de film de PI/PI et PI/métal/PI durable et fiable. Cette contrainte mécanique peut être engendrée et plus ou moins accentuée le long de chaque étape du procédé de fabrication notamment les recuits, les passages sous vide lors des dépôts métalliques et les gravures. On a observé qu'avec une pression élevée lors du dépôt du métal de même que des couches de films de polyimide d'épaisseurs différentes, les implants rétiniens présentaient une contrainte mécanique (fléchissement, frisottement) engendrant des problèmes de délamination entre le métal et le polymère (cloques de la couche métallique, mauvaise adhésion). En réduisant la pression de dépôt des métaux et en déposant les mêmes épaisseurs de polyimide, nous obtenons des implants avec une contrainte mécanique beaucoup plus faible.

3.2.1.1 Adhésion métal/polyimide

L'adhésion étant la liaison chimique ou physique entre deux matériaux (PI/métal et PI/PI) est très importante car elle assure notamment l'étanchéité des pistes métalliques par rapport au liquide biologique évitant ainsi les courts-circuits. Pour améliorer cette adhésion, on peut

utiliser des méthodes de traitement de surface chimiques et/ou physiques que nous pouvons rencontrer dans la littérature.

Il existe des méthodes chimiques telles que le traitement en surface avec du KOH qui augmente la rugosité, l'hydrophilicité et la polarité de la surface du film de polyimide due à la forte interaction entre les groupes d'oxygène du polyimide et le film d'aluminium [124].

Il y a également des méthodes purement physiques telles que le bombardement d'ions d'argon (appelé aussi "rétro-sput" ou "rétro-sputtering") qui consiste à rendre rugueuse la surface du polyimide sur laquelle sera déposé le métal. Cette méthode peut également être combinée à un traitement de surface dans un plasma oxygène qui améliorera les interactions entre le métal et le polymère. Cependant, le plasma oxygène peut selon les métaux induire une corrosion à l'interface métal/polymère qui nuira à l'adhérence et à la durée de vie du métal.

Compte tenu des expériences biologiques qui seront réalisées avec les implants obtenus, nous avons préféré éviter ou limiter les produits chimiques utilisés dans notre procédé de fabrication c'est pourquoi nous utiliserons la méthode physique qui consiste à créer de la rugosité à la surface du polyimide avant le dépôt du métal à l'aide d'un plasma d'argon.

Une autre cause de décollement du film de polyimide est sa sensibilité à la variation du taux d'humidité [125] car il adsorbe l'humidité. Il était ainsi indispensable pour nous de le déshydrater avant d'opérer, notamment avant de déposer une seconde couche de polyimide sur la première où l'adhésion polyimide/polyimide sera notre prochain point d'optimisation.

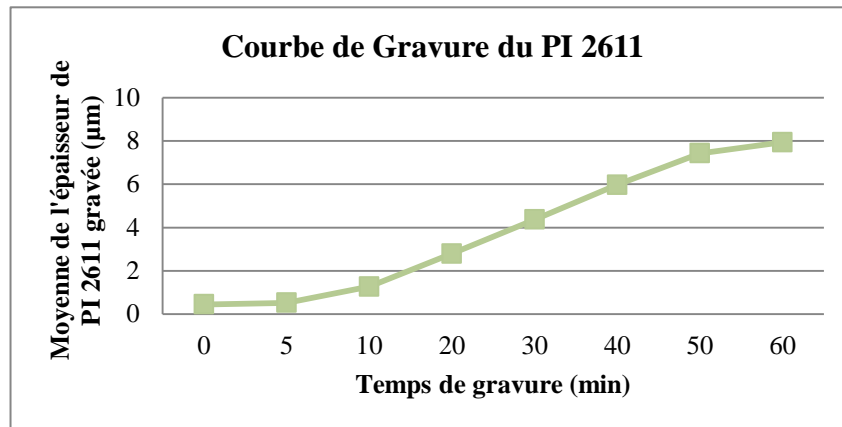
3.2.1.2 Adhésion polyimide/polyimide

Une étude [126] a testé l'adhésion polyimide/polyimide de différents types de PI, en appliquant une tension allant jusqu'à 30 V à un métal pris entre deux films de PI. On observe l'évolution des gaz et une délamination entre le PI et la couche de métal. Les densités de défaut du polyimide 2611 relevées à 2V étaient de 0.01 cm^{-2} et elles sont les plus faibles comparées aux autres types de PI (U-Varnish-S, Durimide 7510). Si le polymère présentait trop de défaut, l'étanchéité et l'adhésion de celui-ci seraient contestables. Etant donné que nos applications ne nécessitent pas l'utilisation d'une tension supérieure à 2V, nous ne devrions pas avoir ce problème.

Comme nous l'avons vu précédemment, nous utilisons les mêmes épaisseurs pour les couches de polyimide pour ne pas induire de contrainte mécanique entre les deux couches ce qui finalement résulte d'une meilleure adhésion PI/PI.

3.2.2 Gravure du polyimide

La vitesse de gravure du polyimide dépend du mélange de gaz utilisé. Dans la littérature, un mélange d'oxygène avec un gaz fluoré augmente la vitesse de gravure [127]. Nous avons ainsi utilisé un mélange de gaz d'oxygène et tétrafluorure de carbone (CF_4) pour la gravure du polyimide 2611 représentée par le Graphe 1.



Graph 1 - Courbe de gravure du polyimide 2611

Une épaisseur de polyimide de 8 μm a été gravée en 1h sous une pression de 100 mTorr, avec une puissance de 80W en présence de 50 sccm d'oxygène et 12,5 sccm de tétrafluorure de carbone (CF_4). Cela fait une moyenne de polyimide gravée de 135 nm/min ce qui est comparable aux valeurs trouvées dans la littérature (100 nm/min [128]).

L'utilisation des gaz fluorés pour diminuer le temps de gravure du polyimide n'est pas sans risque pour les cellules : la gravure par RIE du Polyimide 2611 en plasma oxygène est moins nocive pour les tissus que la gravure en plasma oxygène et tétrafluorure de carbone (CF_4) mais elle est également 5 fois plus longue. En effet, le plasma CF_4 change la surface du polyimide en introduisant des ions fluorures à la surface du polyimide, le rendant ainsi moins biocompatible [129]. Etant donné qu'un masquage protège la surface de l'implant, seul le flanc de l'implant sera exposé. Nous avons donc opté pour une gravure du polyimide par plasma oxygène et argon, dont les tests de biocompatibilité du polyimide qui permettent d'évaluer sa toxicité seront vus plus loin.

3.2.3 Optimisation du masque de gravure

La gravure du polyimide nécessite un masque qui sert à protéger les zones qu'on ne veut pas graver. On remarque qu'en gravant en RIE notre polyimide sous oxygène et argon, il arrive que la gravure du polymère s'arrête. L'aluminium qu'on avait été initialement choisi en tant

que masquage est classiquement utilisé en gravure RIE, mais il est pulvérisé par les ions argons et se redépote sur les zones gravées créant des nanostructures de type « herbes » à la surface ou allant même jusqu'à arrêter la gravure. D'autres masques ont alors été utilisés tel que le titane mais on observe les mêmes problèmes de redépôt et le retrait du masque en titane après la gravure est difficile.

Nous avons opté pour l'utilisation d'une résine négative assez stable et épaisse (type novolaque) qui supporte bien les conditions de gravure ionique et dont la sélectivité est plus grande que celle du polyimide. La gravure avec cette résine évite les effets de micromasquage dû au redépôt de métal.

3.2.4 Récapitulatif

Nous avons donc optimisé différents points des étapes de fabrication des implants tels que l'optimisation des contraintes des matériaux qui améliore leur adhésion (PI/PI et PI/métal), la gravure du PI et l'utilisation d'un meilleur masquage pour sa gravure. Ces études ainsi que le dessin de nouveaux masques de photolithographies ont contribué à augmenter considérablement le rendement des implants rétiniens.

Les implants avec des électrodes en platine lisse ne présentent pas d'assez bonnes propriétés en enregistrement ni en stimulation comme nous l'avons vu précédemment du fait de sa faible surface et de sa capacité de charge de l'électrode, c'est pourquoi l'électrodéposition de platine noir permet respectivement de diminuer l'impédance en accroissant sa surface tout en augmentant la capacité de charge des électrodes. Nous avons donc choisi de développer l'électrodéposition de platine noir sur les électrodes des implants comme détaillé ci-après, en profitant des résultats acquis sur les MEAs rigides.

3.2.5 Electrodéposition de platine noir sur les implants

De même que dans le cas des fourchettes MEA, nous avons calculé la surface afin de déterminer l'intensité de courant à appliquer :

$$S_{\text{cercle } 30 \mu\text{m}} = \pi \times (15 \cdot 10^{-4})^2 = 7,069 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2$$

$$S_{\text{cercle } 60 \mu\text{m}} = \pi \times (30 \cdot 10^{-4})^2 = 2,827 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2$$

Cela nous donne une intensité théorique de $-0,56 \mu\text{A}$ pour une électrode de $30 \mu\text{m}$ de diamètre et $-2,25 \mu\text{A}$ pour une électrode de $60 \mu\text{m}$ de diamètre afin que le dépôt soit similaire à celui obtenu avec les MEA fourchettes. Les électrodes sont électrodéposées également pendant 50s. Cependant nous avons remarqué que le paramètre d'électrodéposition pour les

plus grosses électrodes ne devait pas être appliqué car nous avons observé que le platine noir débordait sur la masse faisant court-circuiter les électrodes entre elles. Nous avons trouvé expérimentalement une intensité optimale de $-1,5 \mu\text{A}$ pour les grosses électrodes. Les électrodes électrodéposées au platine noir sont observées en microscope optique (Figure 76) et à différents grossissement au MEB (Figure 77).

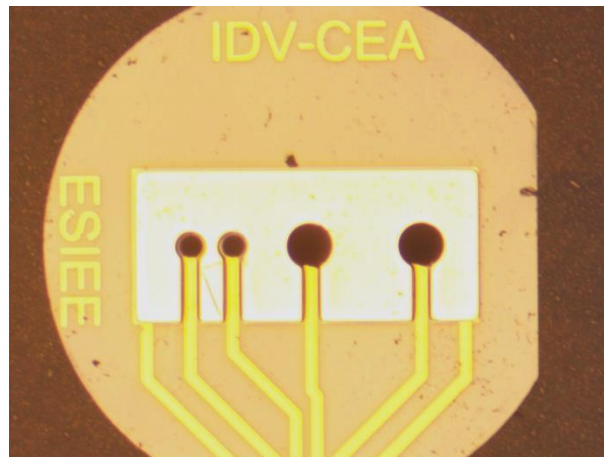


Figure 76 - Vue au microscope optique des électrodes électrodéposées au platine noir

Nous pouvons remarquer qu'au MEB, le contraste et la morphologie sont bien visibles entre les matériaux à savoir le polyimide, le platine lisse de la masse et le platine noir sur les électrodes. Cela permet également d'observer la bonne isolation du polyimide puisqu'il n'y a pas de dépôt de platine noir ailleurs que sur les électrodes. Au MEB, le platine noir électrodéposé se présente sous forme d'agglomérats avec des cavités, des fissures qui font qu'au microscope optique, le platine noir apparaît bien noir. Cette morphologie est similaire à celle de nos MEA fourchettes et celle rencontrée dans la littérature. L'aspect du platine noir sur les petites électrodes est régulier contrairement aux grosses électrodes où le platine noir semble moins structuré. Nous pouvons voir que sur les bords des électrodes, le dépôt est plus important et notamment sur les grosses électrodes, le platine déborde un peu sur l'anneau du polyimide sans toucher la masse.

L'électrodéposition de platine noir sur les grosses électrodes nécessite encore des optimisations afin que le dépôt soit aussi homogène et structuré que celui des petites électrodes en modifiant un ou plusieurs paramètres tels que le temps de dépôt et/ou le courant appliqué.

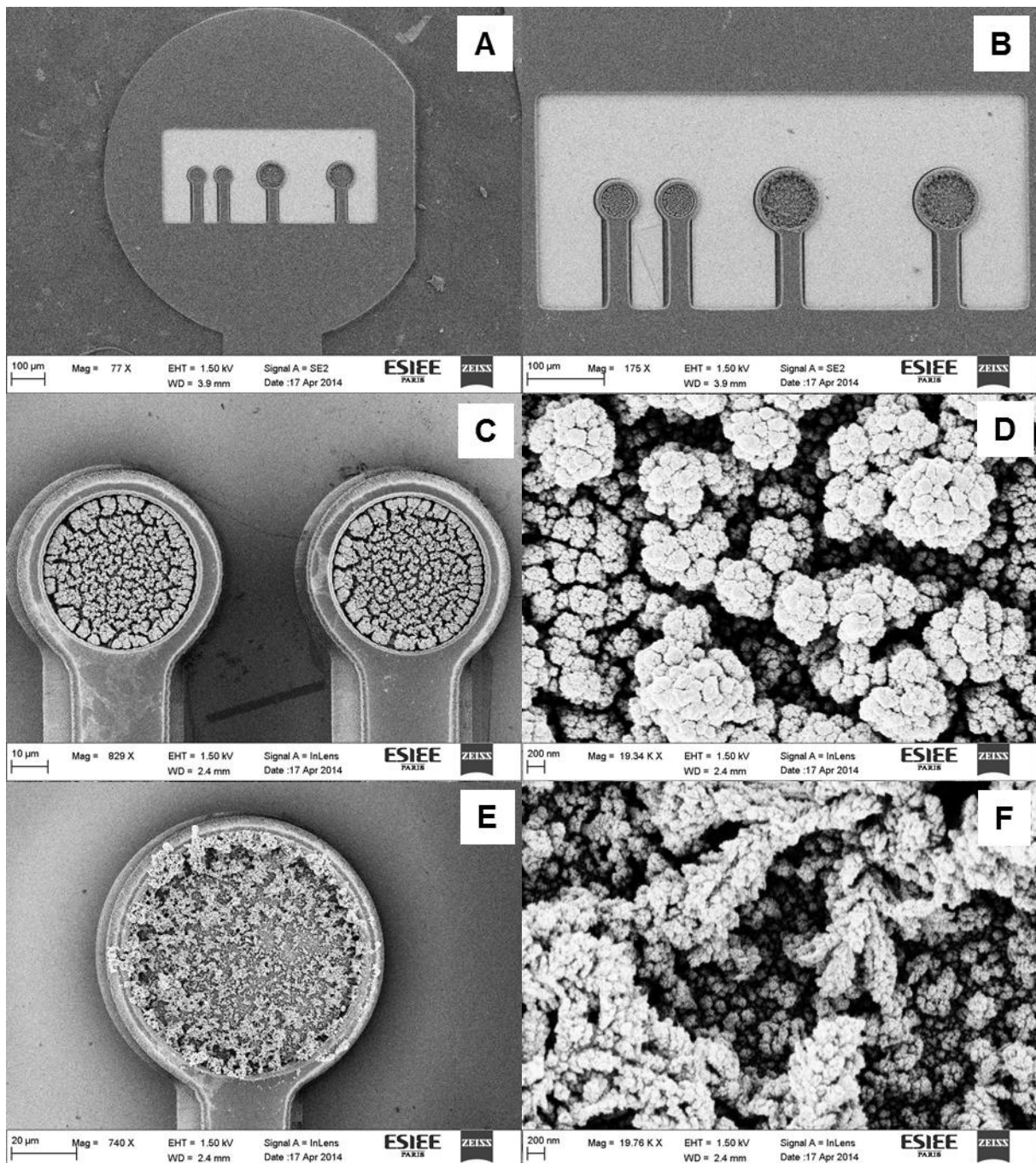


Figure 77 - Vues MEB d'implants planaire avec des électrodes électrodéposées au platine noir à différents grossissements : tête d'implant (A) et son zoom sur la masse et les électrodes (B), deux électrodes de 30 µm (C) et son zoom sur le platine noir (D) et une électrode de 60 µm (E) et son zoom sur le platine noir (F)

Il existe d'autres procédés de fabrication qui permettent également d'obtenir des implants rétiniens avec des électrodes en platine noir. Nous pouvons citer celle d'une équipe japonaise [130] qui consiste à électrodéposer le platine noir avant la libération des implants dans une solution HF. Cependant, le HF dégrade les métaux et étant toxique pour les cellules, il pourrait pénétrer dans les porosités du platine noir et risquer d'endommager les cellules

rétiniennes lors des expériences biologiques si les implants ne sont pas bien nettoyés. De plus, le platine noir étant fragile, il est préférable pour nous de l'électro déposer après la libération des implants.

Les implants électrodéposés en platine noir sont ensuite caractérisés et comparés en 3.4 avec les mêmes types d'implants rétiniens mais avec un autre matériau d'électrode, du diamant dopé au bore qui se veut plus résistant physiquement et chimiquement que le platine noir.

3.3 Procédé de fabrication avec des électrodes en diamant

Le procédé de fabrication des implants rétiniens planaires en diamant (Figure 78) détaillé en annexe (p. 201) a été adapté à partir des MEA rigides planaires en diamant (abordées au Chapitre 2). C'est un procédé original car il permet la réalisation d'implants rétiniens en combinant deux matériaux, polyimide et diamant, qui sont a priori incompatibles du fait de la température de croissance élevée du diamant que le polyimide ne supporterait pas. Le procédé de fabrication repose comme pour les MEA rigides en diamant sur la structuration et la croissance du diamant avant le dépôt et la structuration des autres couches (métal, polymère). Une vue au microscope optique d'un implant en fin de procédé est représenté sur la Figure 79 et au MEB sur la Figure 80 où des restes de silicium gravés sont encore visibles.

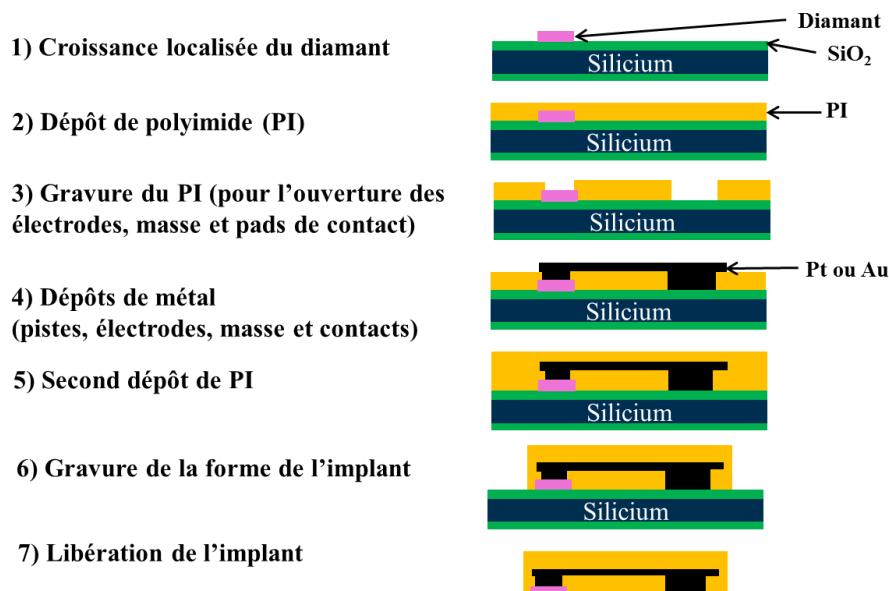


Figure 78 - Procédé de fabrication d'implant rétiniens planaires en diamant.

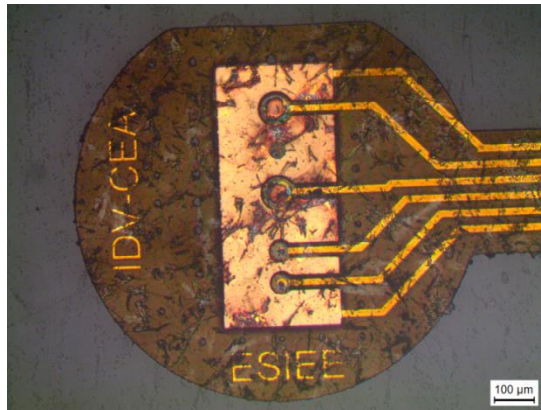


Figure 79 – Vue au microscope optique de tête d’implant avec des électrodes en diamant

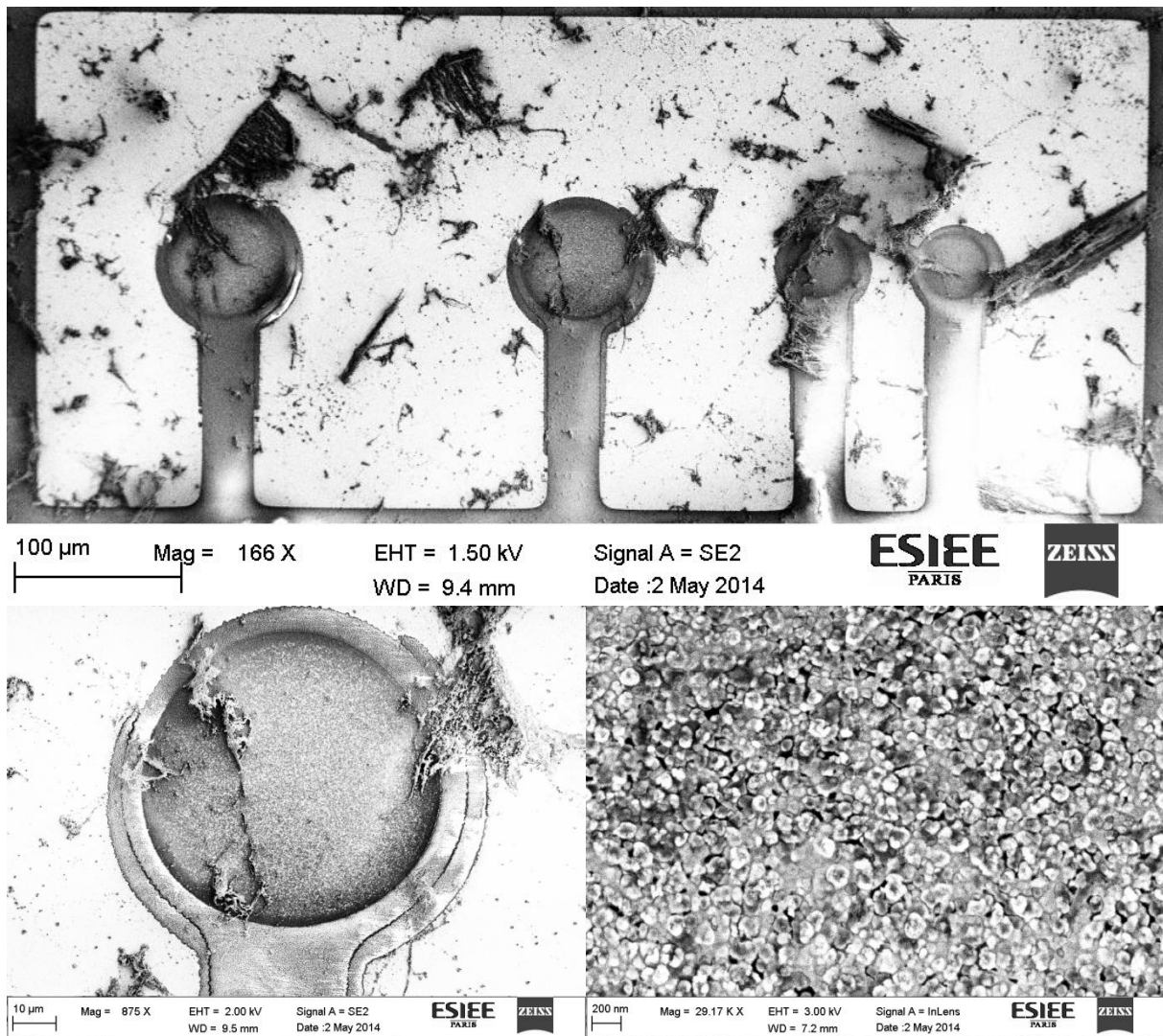


Figure 80 – Vues au MEB d’électrodes en sortie de procédé de gravure du silicium (haut),
électrode de 60 µm (bas gauche) et zoom sur le diamant (bas droite)

Certaines images présentent des contrastes singuliers où apparaissent légèrement déformées ou décalées lors de la prise de l'image au MEB. Cela est dû à l'effet de charge de l'échantillon, probablement à la couche de dioxyde qui n'a pas encore été gravée.

La surface de l'électrode est homogène et présente des grains de diamant de taille nanométrique (entre 50 à 150 nm) qui correspondent aux nanoparticules de diamant qui ont été déposées par centrifugation avant la croissance. On observe que les grains de diamant ont coalescé en un film tout en conservant leur morphologie.

A ce jour, très peu d'implants rétiniens avec des électrodes en diamant dopé ont été réalisés car leur réalisation selon les techniques disponibles est souvent longue. Nous pouvons citer l'implant rétinien en diamant de A. E. Hadjinicolaou [131] où les électrodes sont fabriquées, découpées et leur taille est réduite par ablation laser avant d'être montées en implant rétinien. Le procédé que nous utilisons est plus simple et reste compatible avec les technologies de films minces utilisées en microfabrication.

Les implants rétiniens planaires avec des électrodes en diamant ou en platine noir sont ensuite testés en fin de procédé de microfabrication et comparés pour évaluer l'interface électrochimique des différents types d'électrodes.

3.4 Mesures électrochimiques d'implants rétiniens planaires

3.4.1 Impédance et premier tri avec le nanoZ

Les mesures d'impédances sont réalisées dans le PBS selon le montage suivant (Figure 81) et les impédances à 1 kHz (fréquence de l'activité biologique des cellules biologiques) sont regroupées dans la Tableau 12. Ces résultats sont à manier avec précaution car le NanoZ permet surtout de faire un premier tri des implants rétiniens afin qu'ils puissent être montés pour effectuer d'autres mesures avec une méthode plus fiable en utilisant un potentiostat, le PGSTAT12 d'Autolab (au CEA) ou le VMP-300 de Bio-Logic (à l'ESIEE). Ces appareils (potentiostats) ne possèdent pas de carte d'adaptation pour les interfacer avec l'implant après leur microfabrication pour réaliser des mesures, c'est pourquoi nous avons besoin de les monter individuellement. Ce montage sera présenté dans le prochain chapitre.

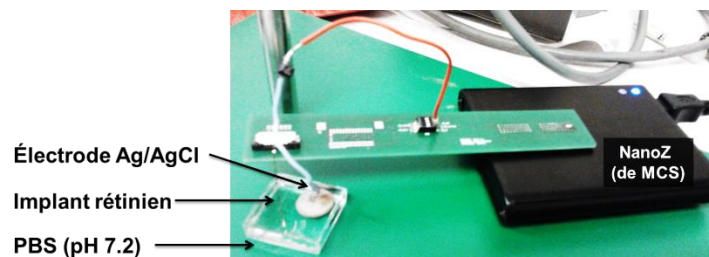


Figure 81 - Montage des mesures des implants rétiniens dans du PBS avec le NanoZ

Type d'électrodes	Avant dépôt platine noir	Après dépôt platine noir
Métal (Pt noir)	991 k Ω ($\varnothing=30 \mu\text{m}$) Phase : $-80,4^\circ$ 278 k Ω ($\varnothing=60 \mu\text{m}$) Phase : $-79,4^\circ$	21 k Ω ($\varnothing=30 \mu\text{m}$) Phase: $-32,1^\circ$ 5 k Ω ($\varnothing=60 \mu\text{m}$) Phase : $-62,9^\circ$
Diamant	4,222 M Ω ($\varnothing=30 \mu\text{m}$) Phase : $74,4^\circ$ 782 k Ω ($\varnothing=60 \mu\text{m}$) Phase : $-82,5^\circ$	Pas de dépôt

Tableau 12 - Mesures à 1 kHz des impédances et des phases des implants rétiniens dans du PBS avec le NanoZ (moyenne sur un substrat d'environ 20 implants)

L'électrodéposition de platine noir sur les électrodes métalliques de $30 \mu\text{m}$ et $60 \mu\text{m}$ a fait baisser respectivement leur impédance d'un facteur de 47 et 56 soit de 98%. Nous obtenons une très forte réduction de l'impédance comparée à nos fourchettes MEA ou à la littérature (85% de réduction de l'impédance avec du platine noire [91]). Les impédances des électrodes en diamant sont plus élevées comparées à celles des électrodes métalliques ainsi que des électrodes diamants de $30 \mu\text{m}$ (70k Ω à 1 kHz [25], vues dans Tableau 3). Cependant, les auteurs de l'article [25] soulèvent des interrogations quant à leur couche d'isolation due à la faible impédance de ces dernières.

Les phases sont d'environ -80° à 1kHz, proche d'une interface capacitive, pour les électrodes en diamant et en métal mais cela est à confirmer en observant la phase sur une gamme de fréquence plus large pour confirmer le comportement capacitif.

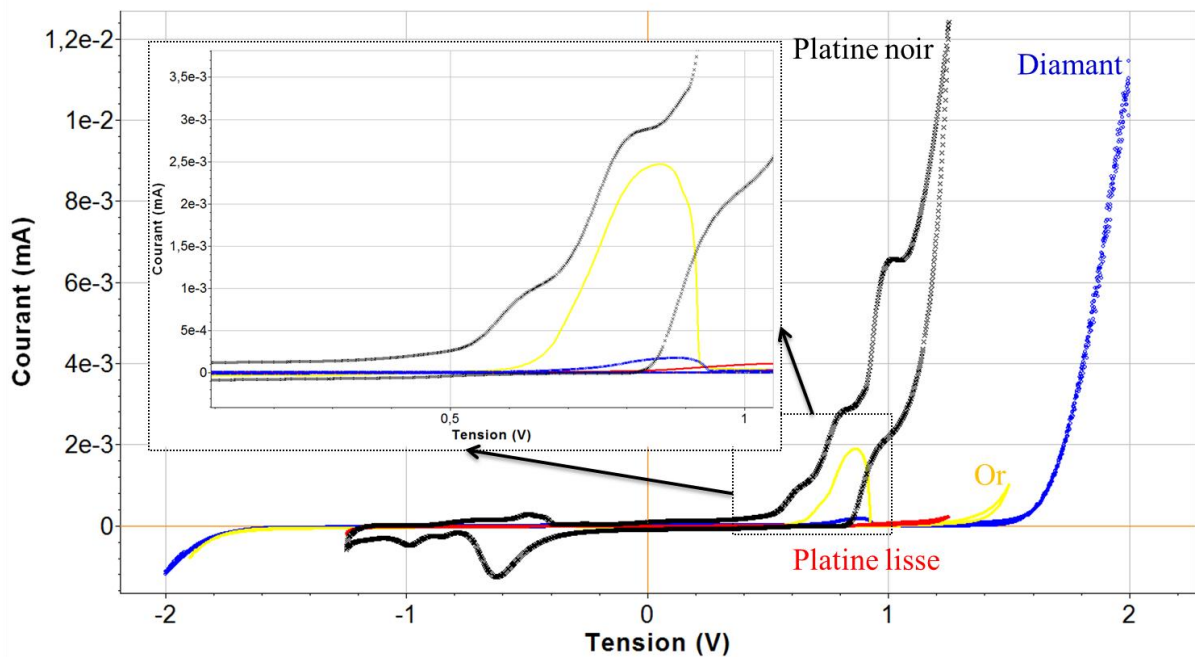
Après ce premier tri, les implants sont montés sur un circuit imprimé pour poursuivre leur caractérisation sur le potentiostat. Les CV sont réalisés dans un premier temps pour déterminer que nous avons bien obtenu le bon matériau d'électrode et dans un second temps, des mesures d'impédances sur une large gamme de fréquence et des tests de pulse de tension sont effectués pour observer le comportement de l'électrode in-vitro. Ces caractérisations sont présentées dans la partie suivante.

3.4.2 Voltamétrie cyclique

Les CV dans du PBS (Graphe 2) montrent bien que nous retrouvons la fenêtre de potentiel de chaque matériau d'électrode, notamment le diamant et le platine noir, ce qui signifie que le procédé de microfabrication est opérationnel.

Le diamant présente une plus large fenêtre de potentiel (3,3V) que l'or (2,6V) et le platine noir et lisse (2,4V) offrant la capacité de détecter des réactions que les autres matériaux d'électrode ne peuvent mesurer (ce qui est en accord avec la littérature [55], [96], [97]).

D'après [56], un grand courant de fond et les effets capacitifs causent un manque de stabilité à des potentiels élevés de détection et sont plus sensibles à l'encrassement. Ça serait le cas pour le platine noir qui présente un plus grand courant de fond (cf. zoom du Graphe 2) comparé aux autres électrodes.



Graphe 2 - CV dans du PBS avec un taux de balayage de 0,1 V/s de différents matériaux (haut) et un zoom sur le pic de 0,84V. Les matériaux sont : diamant (bleu), platine lisse (rouge), platine noir (noir), or (jaune)

On observe la présence d'un pic à 0,84V pour toutes les électrodes (zoom du Graphe 2) aussi bien le BDD, l'or et le platine qui correspond à un pic d'adsorption du groupe phosphate ou chlore contenu dans le PBS [132] qui a été confirmé avec des mesures dans LiClO_4 où ce pic n'apparaît pas.

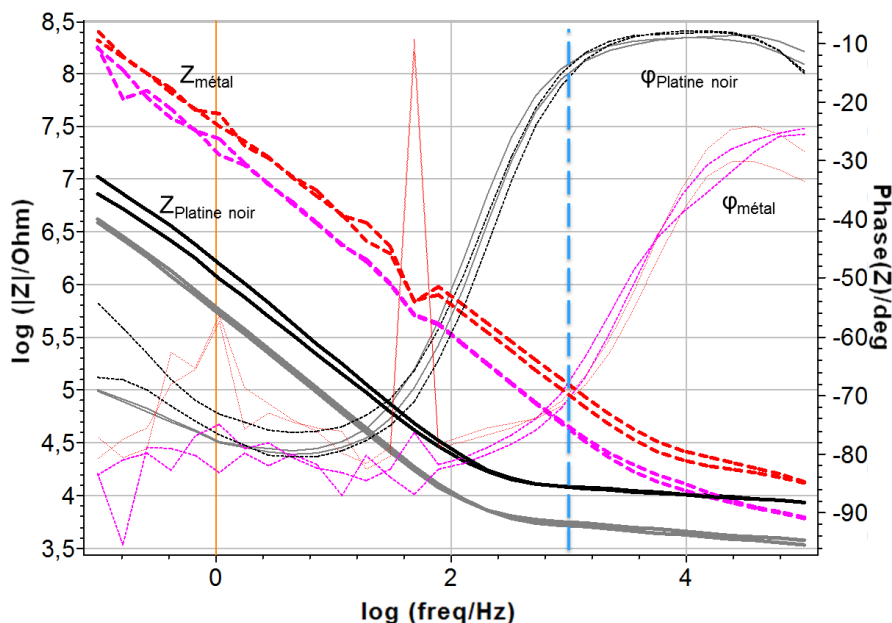
3.4.3 Impédances avec un potentiostat

3.4.3.1 Electrodes métalliques avant et après dépôt de platine noir

Les balayages en fréquence sont réalisés sur une gamme allant de 100 kHz à 100 MHz.

Les mesures des électrodes d'un implant avant et après le dépôt en platine noir sont présentées sous forme de diagramme de Bode en Graphe 3. Ce graphe montre distinctement deux couples d'impédance, l'un avant le dépôt de platine noir (tirets épais) et l'autre après (lignes épaisses). Dans chaque couple, deux séries d'impédance correspondent aux deux tailles d'électrodes de 30 μm (lignes épaisses noires) et de 60 μm (tirets épais rouges). On observe que les impédances diminuent après le dépôt de platine noir et sont déplacées vers les basses fréquences tandis que les phases sont augmentées (Tableau 13): à 1 kHz, l'impédance des électrodes de 60 μm était de 49,7 k Ω et celle de 30 μm de 165,2 k Ω avant le dépôt tandis qu'après le dépôt, elle est respectivement de 5,4 k Ω et de 12,1 k Ω . Ce qui correspond à une réduction d'impédance de 89% (ou d'un facteur de 9,2) pour les électrodes de 60 μm et de 93% (ou d'un facteur de 13,7) pour les électrodes de 30 μm . Ce sont des réductions légèrement moins importantes que celles mesurées avec le NanoZ mais ces valeurs sont cohérentes avec les structures du platine noir précédemment observées au microscope (3.2.5) où les petites électrodes sont mieux structurées et mieux recouvertes de platine noir que les grosses électrodes.

On remarque qu'avant le dépôt de platine noir, au niveau des basses fréquences (entre 100 et 200 Hz), la courbe des phases fluctue beaucoup mais qu'après le dépôt de platine noir, elle est plus stable. Vers les hautes fréquences, les phases sont plus grandes et tendent vers -10° où à 1 kHz, la phase est passée de -70° à $-15,2^\circ$. Le dépôt de platine noir a diminué les impédances et déplacé les phases vers les basses fréquences. Cette modification du comportement du platine noir est due à l'augmentation de la surface de l'électrode qu'on observe également avec d'autres matériaux [63].



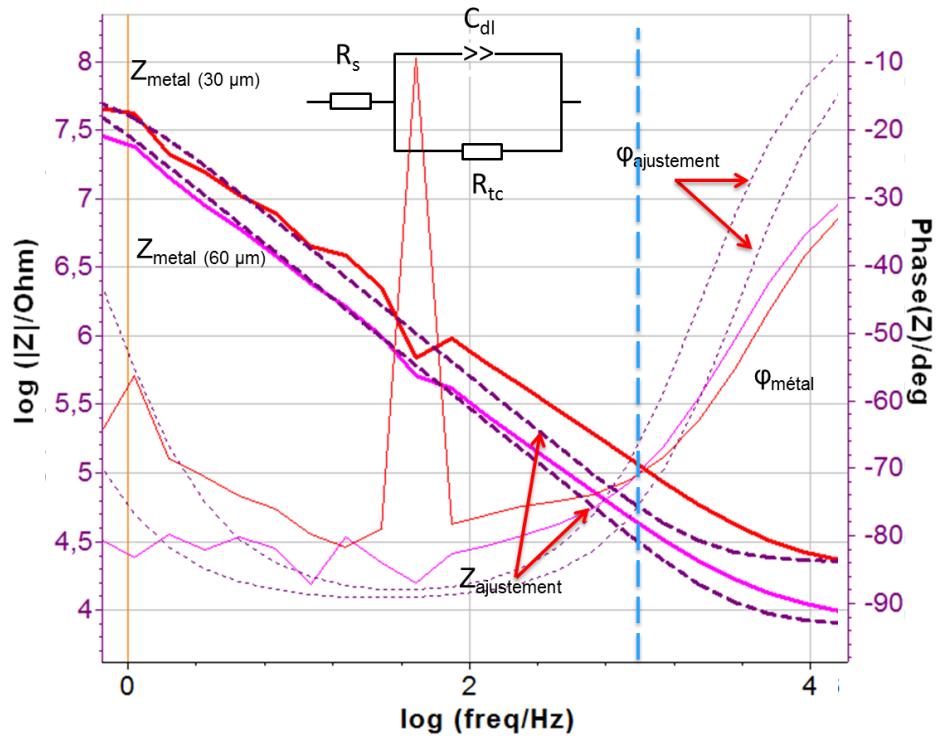
Grphe 3 - Diagramme de Bode: impédances (lignes et tirets épais) et phases (lignes fines et pointillés) d'électrodes planaires de 30 μm (rouge et noire) et de 60 μm (fuchsia et grise) avant dépôt (tirets) et après dépôt de platine noir (lignes épaisses)

Taille d'électrode	Avant dépôt platine noir	Après dépôt platine noir
30 μm	Z=165,2k Ω à 1kHz Phase : -70,2° à 1kHz	Z=12,1k Ω à 1kHz Phase: -14,5° à 1kHz
60 μm	Z=49,7k Ω à 1kHz Phase : -69,3° à 1kHz	Z=5,4k Ω à 1kHz Phase : -15,2° à 1kHz

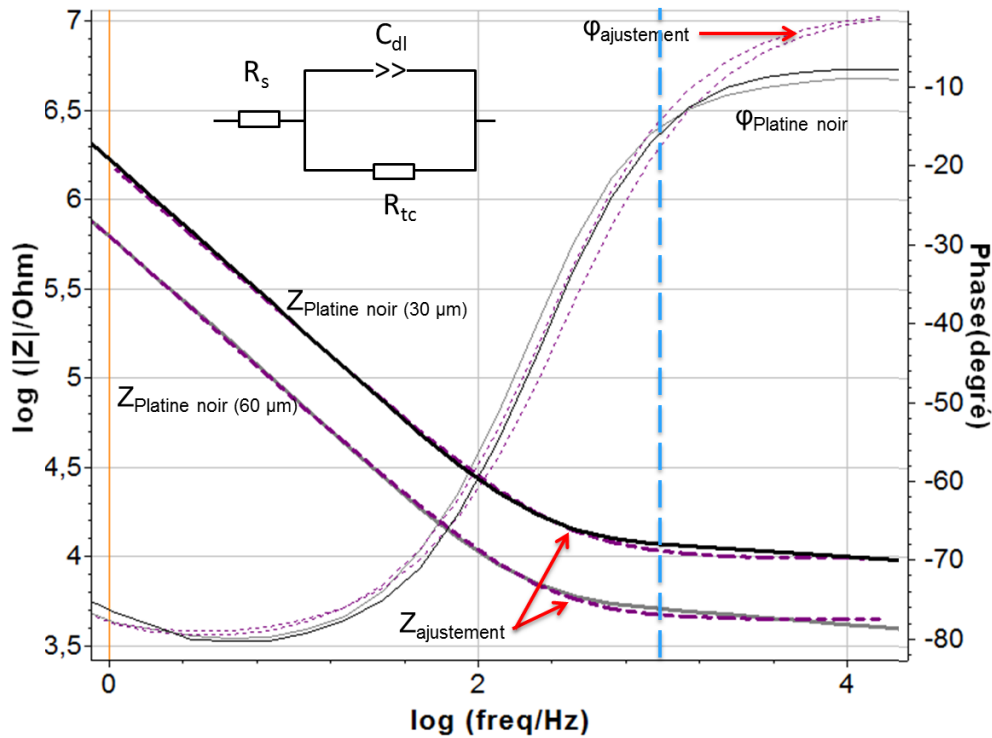
Tableau 13 – Extraction à partir du logiciel VMP-300 des courbes du Grphe 3 de l'impédance et de la phase à 1kHz d'électrodes métalliques planaires

Nous traçons des courbes d'ajustement à l'aide du logiciel du potentiostat du Biologic (Z Fit) afin d'extraire les valeurs de résistances et capacités. Le circuit équivalent choisi correspond au circuit de Randles avec un élément à phase constant (CPE) car la phase obtenue n'équivaut pas à celle d'une capacité pure [133]. Les CPE sont donnés par le logiciel sous forme de pseudocapacité C_{dl} ou de paramètre Q avec une puissance α . Les valeurs de la résistance en série R_s , la capacité de double couche CPE, et la résistante de transfert de charge R_{tc} avant (Grphe 4) et après dépôt (Grphe 5) de platine noir sont regroupées dans le Tableau 14. Leur déviation est petite ce qui suggère que le circuit choisi modélise bien le comportement de l'électrode. En effet, on peut voir que les courbes d'ajustement sont relativement correctes surtout dans le cas du platine noir.

On observe qu'après le dépôt de platine noir, on a une augmentation des CPE. L'électrodéposition a multiplié par 33 la capacité de double couche pour les électrodes de 30 μm et par 42 fois celles de 60 μm . Cela permet donc une charge ou une décharge de courant plus importante et pourrait s'avérer dangereux pour les cellules si l'on ne contrôle pas bien les courants injectés.



Grappe 4 – Diagramme de Bode d'une électrode planaire de 30 μm (courbe rouge) et de 60 μm (courbe fuschia) avant dépôt de platine noir et leurs courbes de fitting (pointillés violets)



Graphe 5 – Diagramme de Bode d’une électrode planaire de 30 μm (courbe noire) et de 60 μm (courbe grise) après dépôt de platine noir et leurs courbes d’ajustement (pointillées violets)

Taille d’électrode	Avant dépôt platine noir		Après dépôt platine noir	
	Valeurs	Déviations	Valeurs	Déviations
30 μm	$R_s=22,4\text{k}\Omega$	1	$R_s=9,8\text{k}\Omega$	0,236
	$C_{dl}=3,1\text{nF}$		$C_{dl}=140\text{nF}$	
	$Q=3,1\text{nFs}^{(\alpha-1)}, \alpha=1$	1	$Q=120\text{nFs}^{(\alpha-1)}, \alpha=0,90$	$78e^{-15}$
	$R_{tc}=68,0.10^6\Omega$	0,188	$R_{tc}=32,7.10^6\Omega$	41,42
60 μm	$R_s=7,8\text{k}\Omega$	1	$R_s=4,5\text{k}\Omega$	0,312
	$C_{dl}=5,4\text{nF}$		$C_{dl}=331\text{nF}$	
	$Q=5,4\text{nFs}^{(\alpha-1)}, \alpha=1$	1	$Q=299\text{nFs}^{(\alpha-1)}, \alpha=0,91$	$6,1.10^{-12}$
	$R_{tc}=117.10^6\Omega$	0,036	$R_{tc}=9,4.10^6\Omega$	938

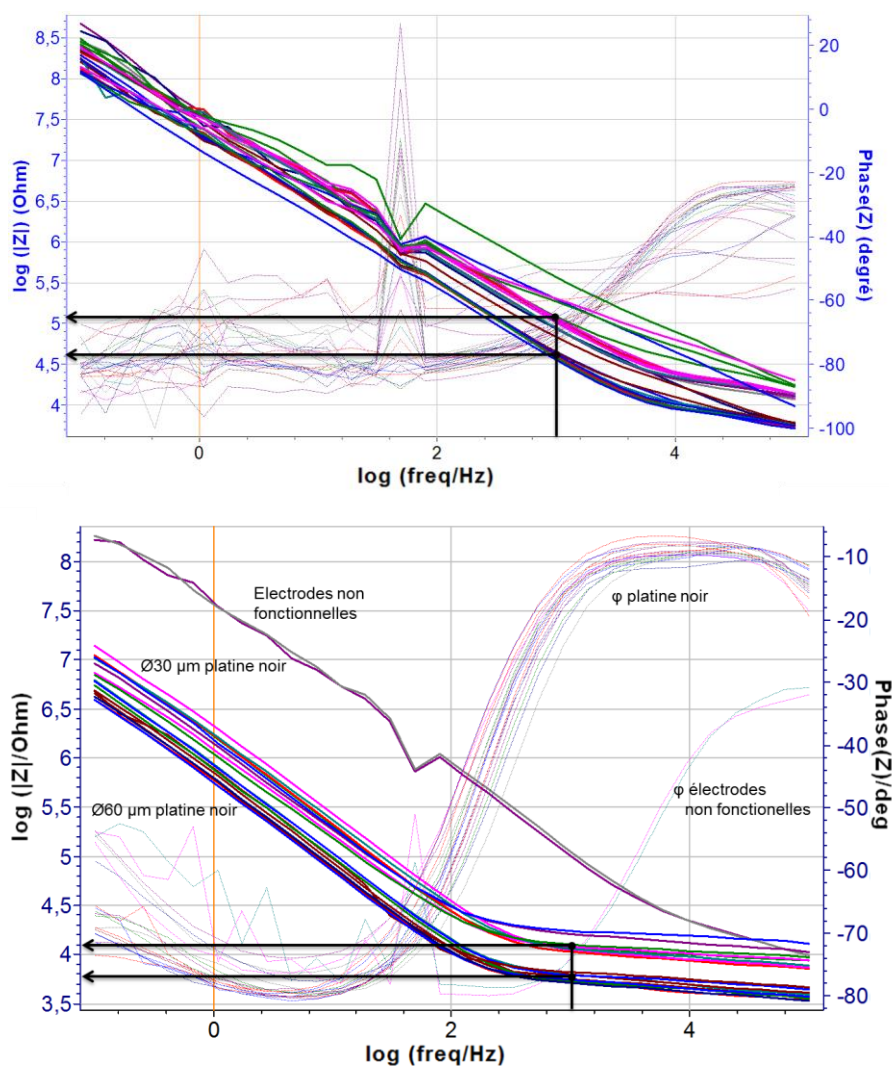
Tableau 14 – Valeurs de R_s , C_{dl} et R_{tc} obtenues à partir du logiciel d’ajustement du Biologic (Z Fit) d’électrodes planaires avant et après dépôt de platine noir

Ces graphes démontrent donc que les électrodes électrodéposées ont un comportement plus capacitif que les électrodes non déposées. Cela est cohérent car le platine noir augmente la surface de l’électrode ce qui offre une capacité de double couche plus grande en basses fréquences.

Sur un plus grand nombre d’échantillon d’implant, nous pouvons observer la tendance générale d’une vingtaine d’électrodes (30 μm et 60 μm) et voir l’évolution des impédances et

des phases avant le dépôt et après le dépôt de platine noir (Graphe 6). Sur les graphes de Bode avant le dépôt de platine, les impédances des deux tailles d'électrodes n'étaient pas bien visibles tandis qu'après le dépôt, même dans les basses fréquences, on distingue clairement les deux séries d'impédances. Les impédances après le dépôt sont plus homogènes signifiant que les dépôts sont bien reproductibles. Concernant les phases, après le dépôt (Graphe 6 (bas)) on voit nettement leur augmentation par rapport à deux électrodes qui n'ont pas été électrodéposées, probablement car les électrodes n'étaient pas fonctionnelles.

On observe le même phénomène où l'électrodéposition modifie le comportement des électrodes, les rendant plus capacitif dans les basses fréquences.

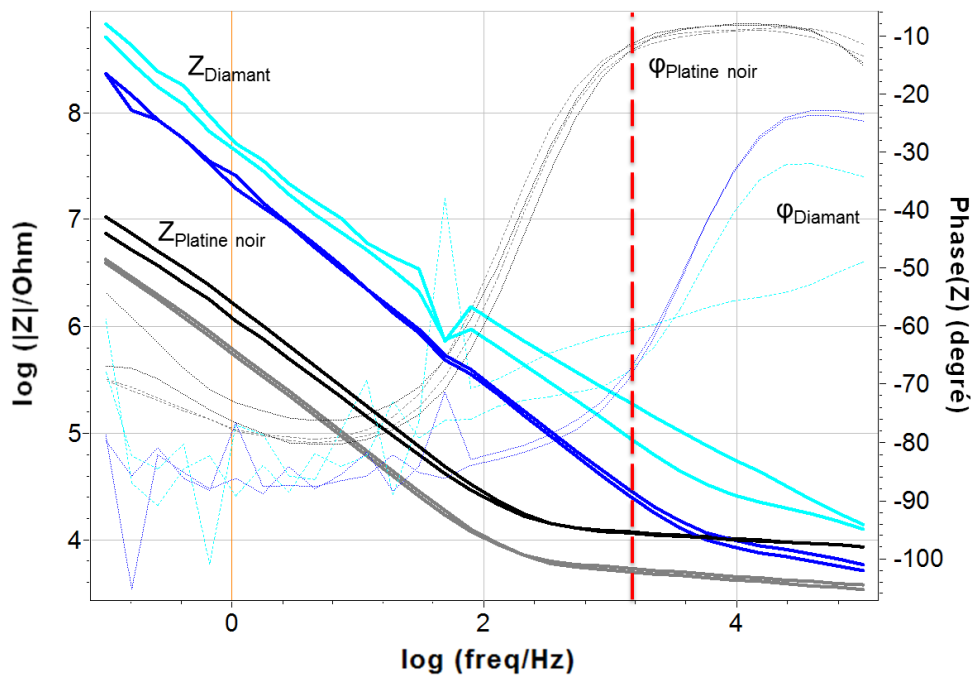


Graphe 6 - Tendence générale en diagramme de Bode : impédances (lignes épaisses) et phases (lignes fines) avant (haut) et après (bas) dépôt de platine noir d'une vingtaine d'électrodes planaires en métal (30 et 60 μm)

3.4.3.2 Comparaison du diamant et du platine noir

Les mesures des électrodes d'un implant en platine noir sont comparées avec celui en diamant et sont présentées sous forme de diagramme de Bode en Graphe 7. On voit que la différence entre les modules d'impédance du platine noir et du diamant est bien marquée. Le diamant présente à 1kHz des impédances d'électrode de 30 μm 5,7 fois plus élevée et de 60 μm 7,8 fois plus élevées que celles en platine noir. Cependant elles restent plus faibles que les électrodes métalliques avant électrodéposition de platine noir de 2,4 fois pour les électrodes de 30 μm et de 1,2 fois pour les électrodes de 60 μm . Cette différence peut s'expliquer par la combinaison de la morphologie de surface du diamant et son dopage qui le rend meilleur que les électrodes métalliques avant électrodéposition de platine noir.

Ces résultats signifieraient que du fait de la faible impédance, le platine noir présentera les meilleures propriétés en enregistrement suivi du diamant puis des électrodes métalliques.

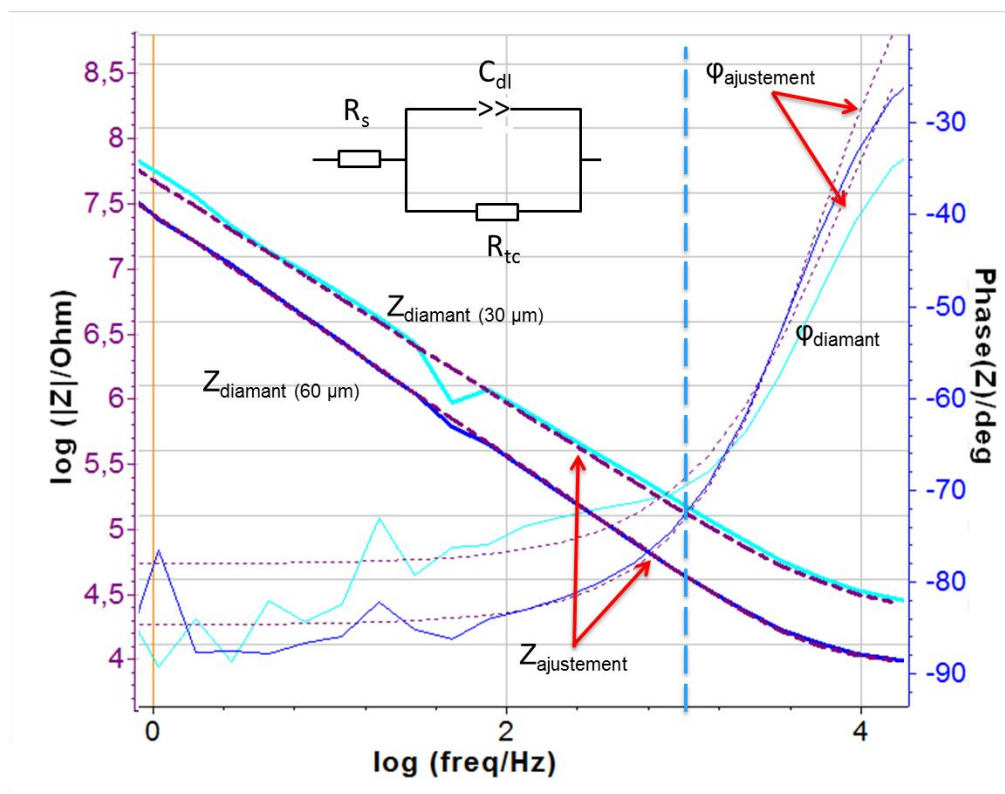


Graphe 7 - Graphe de Bode avec sa phase : impédances (lignes épaisses) et phases (lignes fines et pointillés) d'électrodes de 30 μm (cyan et noir) et de 60 μm (bleu et gris) d'électrodes planaires en diamant (cyan et bleu) et en platine noir (gris et noir)

Taille d'électrode	Platine noir	Diamant
30 μm	Z=12,1k Ω à 1kHz Phase: -14,5° à 1kHz	Z=203k Ω à 1kHz Phase : -72,9° à 1kHz
60 μm	Z=5,4k Ω à 1kHz Phase : -15,2° à 1kHz	Z=42,2k Ω à 1kHz Phase : -66,1° à 1kHz

Tableau 15 – Extraction à partir du VMP-300 des courbes du Graphe 7 de l'impédance et de la phase à 1kHz d'électrodes planaires en platine noir et diamant

Cela est confirmé après l'ajustement (Graphe 8) et l'extraction des paramètres (Tableau 16) R_s , C_{dl} , et R_{tc} où les électrodes en diamant présentent des capacités de double couche plus faible (58 fois pour les électrodes de 30 μm et 34 fois pour les électrodes de 60 μm) que celles en platine noir. On peut remarquer que diamant possède une capacité de double couche équivalente aux électrodes métalliques avant dépôt de platine noir qui témoigne du comportement quasi-métallique du diamant. Ici aussi, la déviation des valeurs de R_s , C_{dl} , et R_{tc} est petite et l'ajustement des courbes sont relativement correctes ce qui suggère que le circuit choisi modélise bien le comportement de l'électrode.



Graphe 8 - Diagramme de Bode d'une électrode de 30 μm (courbe noire) et de 60 μm (courbe grise) après dépôt de platine noir et leurs courbes d'ajustement (pointillés violets)

Taille d'électrode	Platine noir		Diamant	
	Valeurs	Déviaton	Valeurs	Déviaton
30 μm	$R_s=9,8\text{k}\Omega$	0,236	$R_s=14,3\text{k}\Omega$	1
	$C_{dl}=140\text{nF}$		$C_{dl}=2,4\text{nF}$	
	$Q=120\text{nFs}^{(\alpha-1)}, \alpha=0,90$	$78e^{-15}$	$Q=2,4\text{nFs}^{(\alpha-1)}, \alpha=1$	$1,7 \cdot 10^{-16}$
	$R_{tc}=32,7 \cdot 10^6 \Omega$	41,42	$R_{tc}=2,0 \cdot 10^{09} \Omega$	0,030
60 μm	$R_s=4,5\text{k}\Omega$	0,312	$R_s=5,7\text{k}\Omega$	0,232
	$C_{dl}=331\text{nF}$	$6,1 \cdot 10^{-12}$	$C_{dl}=9,6\text{nF}$	$8,5 \cdot 10^{-16}$
	$Q=299\text{nFs}^{(\alpha-1)}, \alpha=0,91$		$Q=7,8\text{nFs}^{(\alpha-1)}, \alpha=0,94$	
	$R_{tc}=9,4 \cdot 10^6 \Omega$	938	$R_{tc}=4,7 \cdot 10^9 \Omega$	5374

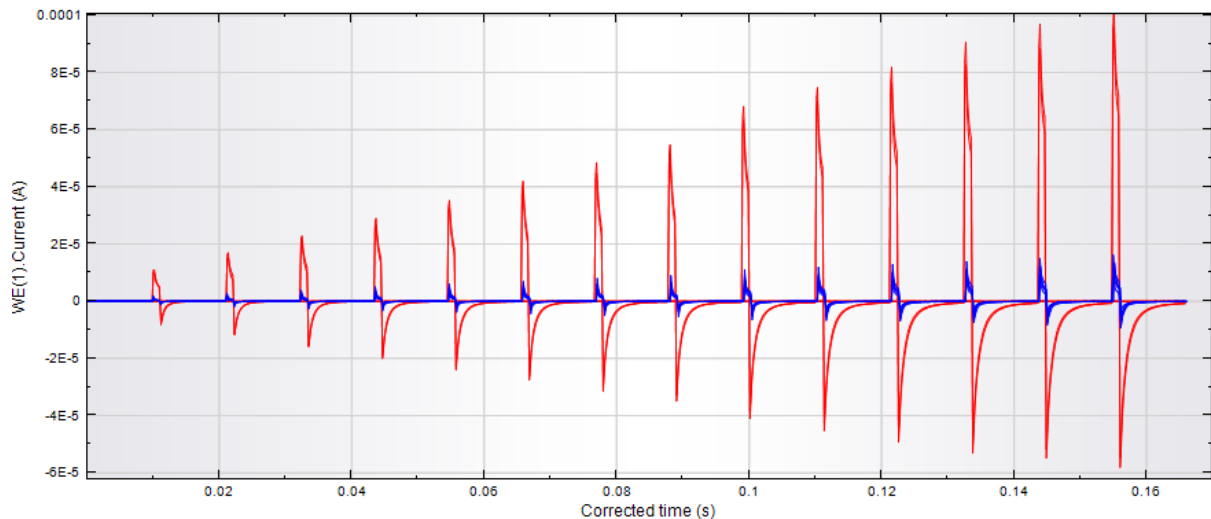
Tableau 16 - Valeurs de R_s , C_{dl} et R_{tc} obtenues à partir du logiciel d'ajustement du Biologic (Z Fit) d'électrodes planaires métalliques et diamant

3.4.4 Caractérisation par pulse de tension des implants planaires

Nous avons cherché à déterminer la quantité de charge maximale de nos électrodes de 30 μm et 60 μm en diamant et en platine noir sur des implants libérés en leur appliquant des pulses de tensions croissants ($I=U/(Z(f))$) de 0,2 V à 1,6 V. La durée d'un pulse de tension appliqué à l'électrode est de 1 ms et le courant induit par ce pulse est mesuré. L'intégration de l'aire sous le pulse permet de déduire le courant injecté par un pulse de tension.

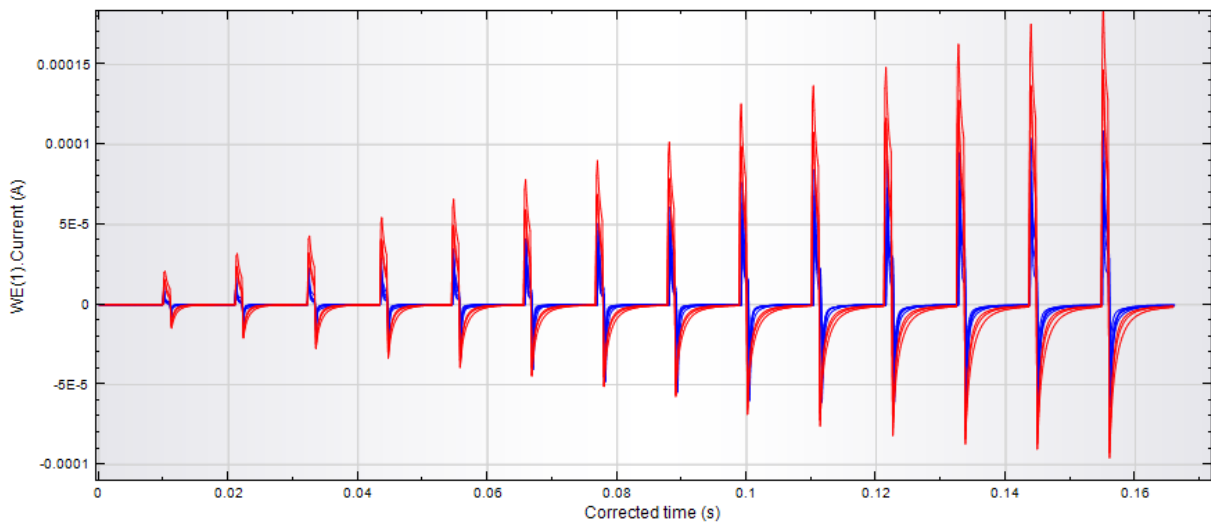
Nous avons considéré que l'on pouvait appliquer des pulses de tension sans induire l'hydrolyse de l'eau jusqu'à **1,4 V pour le diamant dopé** et **1,1 V pour le platine noir**. Les graphes obtenus montrent les pulses de tension pour des électrodes de 30 μm (Graphe 9) et de 60 μm (Graphe 10).

La charge injectée par un pulse de 1 ms à 1,4 V par l'électrode en diamant dopé de 30 μm est de 8,9 nC et celle du **platine noir à 1,1 V est de 48 nC**. Le platine noir peut donc injecter de **5,4 fois plus de charge** que le BDD pour une électrode de 30 μm ce qui confirme la faible capacité du diamant vue précédemment avec les mesures d'impédances.



Graphe 9 - Courant induit par des pulses de tension sur des électrodes planaires de 30 μm en platine noir (rouge) et diamant dopé (bleu).

La charge injectée par un pulse d'1ms à 1,4V par l'électrode en diamant dopé de 60 μm est de 42,3 nC et celle du platine noir à 1,1 V est de 97 nC. Le platine noir peut donc injecter 2,3 fois plus de charge que le diamant dopé pour une électrode de 60 μm ce qui semble relativement faible.



Graphe 10 - Courant induit par des pulses de tension sur des électrodes planaires de 60 μm en platine noir (rouge) et en diamant dopé (bleu).

En stimulation, des impulsions biphasiques de courte durée (telles que 1 ms) devront généralement être utilisées pour éviter des réactions faradiques et leurs sous-produits car le courant qui s'écoule facilement à travers la résistance de transfert de charge causerait des dégâts aux tissus [134].

Des expériences complémentaires devront être réalisées in-vivo et/ou in-vitro afin de déterminer la quantité limite de charge injectée avant la dégradation des tissus (issue de la variation locale du pH ou par des courants élevés injectés) et si l'augmentation de la tension des pulses sur les électrodes en diamant serait sans risque pour les tissus. De cette façon, nous pourrions déterminer l'efficacité des électrodes en diamant pour la stimulation. Cette étude est en cours d'évaluation avec nos partenaires biologistes.

3.5 Récapitulatif

Nous retrouvons bien les fenêtres de potentiels attendues pour les deux matériaux et les impédances relevées sont cohérentes avec celles attendues. Le platine noir présente des caractéristiques supérieures (impédances faibles et capacité de double couche élevée) à celles du BDD de façon franche. Sa grande capacité de double couche est liée à l'augmentation de sa surface après électrodéposition.

Le diamant bien qu'il possède une faible capacité de double couche similaire aux électrodes métalliques avant électrodéposition, il est bien biocompatible [57], [79] et aurait théoriquement une plus longue durée de vie que le platine noir.

Type d'électrode	Taille d'électrode	Avant dépôt platine noir	Après dépôt platine noir
Métal	30 μm	$Z=165,2\text{k}\Omega$ à 1kHz Phase : $-70,2^\circ$ à 1kHz $R_s=22,4\text{k}\Omega$ $C_{dl}=3,1\text{nF}$ $Q=3,1\text{nFs}^{(\alpha-1)}$, $\alpha=1$ $R_{tc}=68,0.10^6\Omega$	$Z=12,1\text{k}\Omega$ à 1kHz Phase: $-14,5^\circ$ à 1kHz $R_s=9,8\text{k}\Omega$ $C_{dl}=140\text{nF}$ $Q=120\text{nFs}^{(\alpha-1)}$, $\alpha=0,90$ $R_{tc}=32,7.10^6\Omega$
	60 μm	$Z=49,7\text{k}\Omega$ à 1kHz Phase : $-69,3^\circ$ à 1kHz $R_s=7,8\text{k}\Omega$ $C_{dl}=5,4\text{nF}$ $Q=5,4\text{nFs}^{(\alpha-1)}$, $\alpha=1$ $R_{tc}=117.10^6\Omega$	$Z=5,4\text{k}\Omega$ à 1kHz Phase : $-15,2^\circ$ à 1kHz $R_s=4,5\text{k}\Omega$ $C_{dl}=331\text{nF}$ $Q=299\text{nFs}^{(\alpha-1)}$, $\alpha=0,91$ $R_{tc}=9,4.10^6\Omega$
Diamant	30 μm	$Z=203\text{ k}\Omega$ à 1kHz Phase : $-72,9^\circ$ à 1kHz $R_s=14,3\text{k}\Omega$ $C_{dl}=2,4\text{nF}$ $Q=2,4\text{nFs}^{(\alpha-1)}$, $\alpha=1$ $R_{tc}=2,0.10^{09}\Omega$	Pas de dépôt
	60 μm	$Z=42,2\text{k}\Omega$ à 1kHz Phase : $-66,1^\circ$ à 1kHz $R_s=5,7\text{k}\Omega$ $C_{dl}=9,6\text{nF}$ $Q=7,8\text{nFs}^{(\alpha-1)}$, $\alpha=0,94$ $R_{tc}=4,7.10^9\Omega$	Pas de dépôt

Tableau 17 – Récapitulatifs des mesures

En comparant la capacité du platine noir (11706 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ pour les grosses électrodes et 19806 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ pour les petites) et du diamant (340 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ pour les électrodes) avec les matériaux de la littérature (Tableau 18), on observe que le platine noir présente la plus grande capacité de double couche et que celle du diamant est meilleure que les métaux (Ti et Pt) n'ayant pas subi de modification de la surface.

Matériaux	Capacité	Référence
Platine noir de cette thèse	11706-19806 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$	/
Platine noir	6687-17000 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$	[135], [63]
IrOx	2174 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$	[135]
Diamant de cette thèse	340 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$	/
Ti	160 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$	[63]
Pt	10-60 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$	[135], [63]

Tableau 18 – Valeurs de capacité de double couche de quelques matériaux dans le PBS

Comme nous l'avons vu précédemment, les électrodes conventionnelles sont plates et dans le but d'améliorer le contact avec les cellules rétinienne, certaines études démontrent que les électrodes tridimensionnelles pourraient conduire à une grande amélioration en ce qui concerne les courants de stimulation et la résolution spatiale. Nous avons donc développé des procédés de fabrication spécifiques pour ces géométries tridimensionnelles développées avec nos partenaires, qui fera l'objet de la partie suivante.

4. Implants rétiniens tridimensionnels

Afin de valider la géométrie 3D, nous avons successivement fabriqué des implants en polyimide, puis avec des électrodes en platine ou en diamant dopé englobées dans deux couches de polyimide.

4.1 Procédé de fabrication 3D tout polyimide

4.1.1 Fabrication du moule tridimensionnel et de l'implant tout polyimide

Le procédé de fabrication des implants tridimensionnels est plus complexe que celui des implants planaires car il est nécessaire de créer un moule en silicium qui définit la forme et la profondeur des cuvettes (20 à 45 μm). Pour réaliser ce moule, nous avons utilisé la technique de gravure par voie humide dans la potasse (KOH)⁹ qui requiert des structures de compensation afin d'obtenir à la fin des structures en forme de cônes tronqués avec une forme pour le fond du puits presque ronde et des flancs qui suivent les plans cristallins du silicium comme on peut le voir sur la Figure 82.

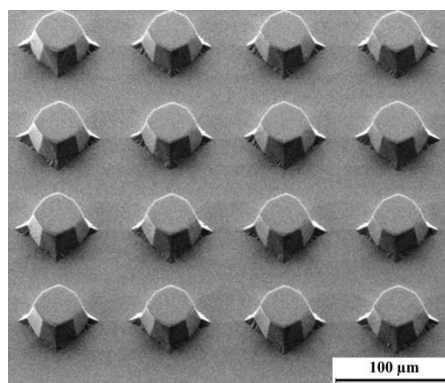


Figure 82 – Exemple de moule réalisé avec la technique de gravure KOH.

⁹ Produit chimique permettant une gravure anisotrope en fonction de l'orientation cristalline du silicium

Une méthode alternative est la fabrication du moule en utilisant un procédé DRIE non standard par gravure alternée isotrope et anisotrope (procédé Bosch, cf. Chapitre 2 §4.1.1). Avec cette méthode, il est possible de réduire les espaces entre les cônes tronqués conduisant à une plus grande densité d'électrodes. De plus nous ne serons plus limités par les plans cristallins du silicium pendant la gravure ce qui permet de créer presque toutes les formes géométriques : un exemple de moule réalisé est illustré sur la Figure 83.

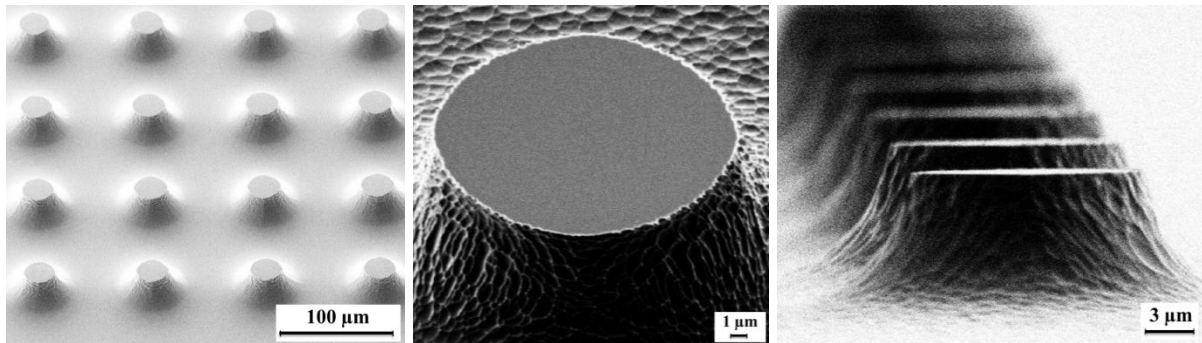


Figure 83 – Différentes vues d'un moule en silicium réalisé par DRIE.

La difficulté à réaliser les implants tridimensionnels repose sur la topographie. En effet, le polyimide étant déposé par centrifugation, son épaisseur ne sera pas uniforme sur ces structures 3D. Avant de pouvoir intégrer d'autres matériaux pour la fabrication des implants, des tests ont été réalisés sur l'étape de dépôt du polyimide afin vérifier si celui-ci épouse bien la forme et si une fois recuit, le film n'est pas perforé au niveau de ces structures 3D. Les tests ont été concluants pour une épaisseur de PI de 10 µm car les implants obtenus ne présentent pas de défaut (Figure 84) et sont suffisamment flexibles pour être manipulés en chirurgie.

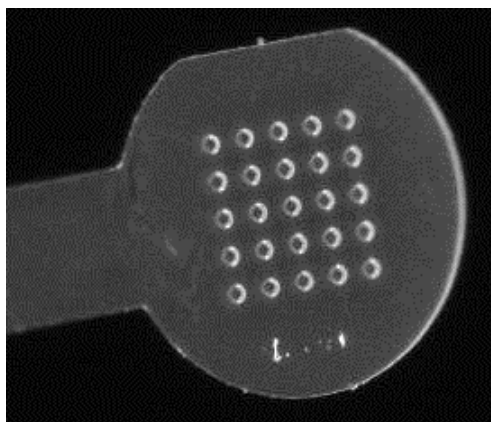


Figure 84 - Implant tout polyimide (échelle : 1 mm de diamètre pour la tête d'implant).

Des expériences biologiques ont été menées antérieurement dans [53] pour évaluer la biocompatibilité du polyimide et valider la géométrie en forme de puits préalablement à la fabrication des implants fonctionnels.

4.1.2 Tests biologiques

Pour déterminer la biocompatibilité du polyimide et valider la forme géométrique des puits, les implants tout polyimide ont été implantés en position sous rétinienne dans l'œil de rat P23H atteint de rétinite pigmentaire. Ensuite les cellules rétiniennes sont marquées par différentes colorations (molécules ou anticorps fluorescents) afin que par une technique d'imagerie en fluorescence, ces cellules puissent être différenciées et dénombrées. Les noyaux des cellules bipolaires sont marqués en bleu (molécule fluorescente DAPI), les corps des cellules bipolaires en vert (anticorps anti Pkc α) et les cellules gliales en rouge (anticorps anti GFAP) où ces dernières lorsqu'elles sont anormalement nombreuses, sont le signe d'une réaction inflammatoire. La Figure 85 représente différentes coupes optiques virtuelles des cellules rétiniennes avec un implant tout polyimide où dans les puits et selon les différentes coupes, il n'y a pas de cellules gliales en contact avec le polyimide mais seulement des cellules bipolaires.

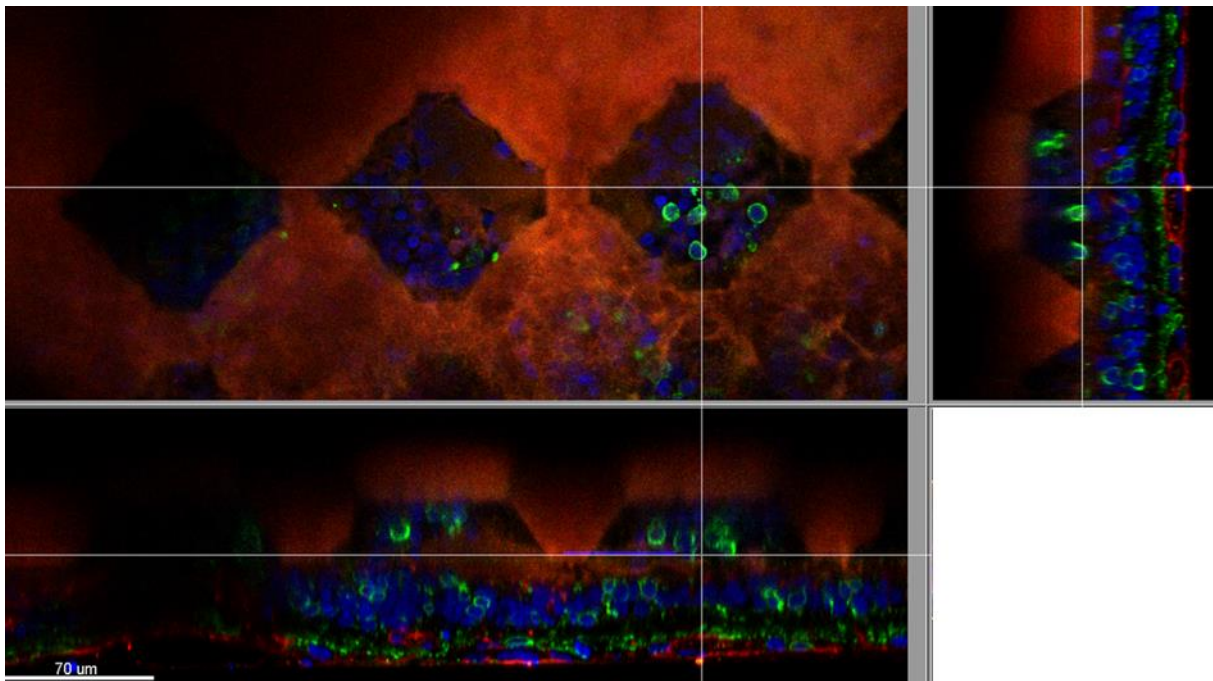


Figure 85 – Différentes coupes optiques virtuelles de cellules rétiniennes sur un implant tout polyimide prises avec un microscope confocal [79]

Une coupe au cryostat¹⁰ du tissu avec l'implant est également réalisée pour tester la plasticité de la rétine. Sur la Figure 86, on observe que la rétine est flexible puisqu'elle peut se mouler dans les structures 3D pour des puits de 30 μm de profondeur aussi bien de 45 μm que de 30 μm de largeur.

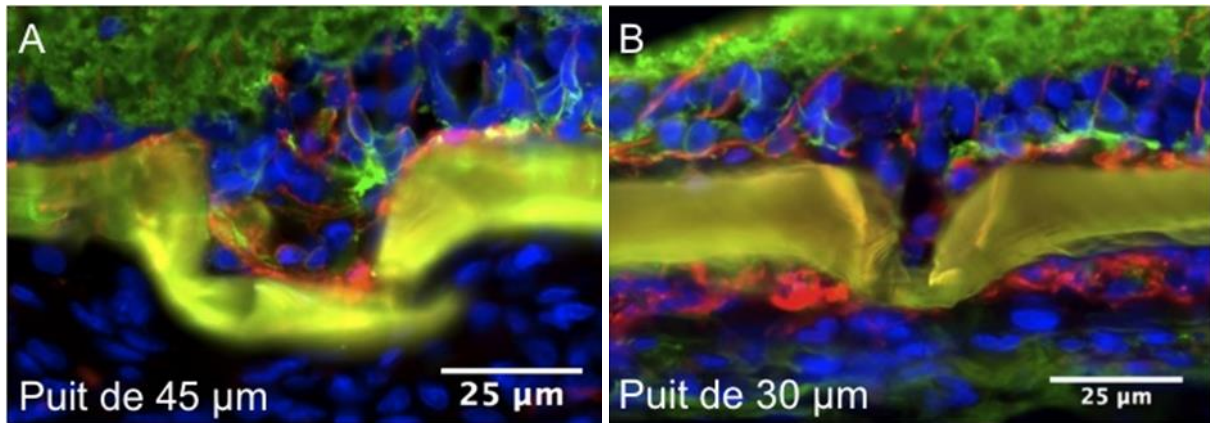


Figure 86 - Rétine de rat P23H sur un implant tout polyimide [53], [79].

Ces expériences biologiques ont démontré la biocompatibilité du polyimide et validé la géométrie 3D, ce qui nous a incités à poursuivre avec la fabrication d'implants fonctionnels.

4.2 Procédé de fabrication 3D avec des électrodes en métal

Le procédé de fabrication de ces implants 3D avec des électrodes métalliques (Figure 87, détaillé en annexe p. 203) est difficile surtout lors des étapes en photolithographie à cause des topologies importantes du moule en silicium. Par conséquent, les motifs transférés au polymère (tels que la taille de l'ouverture des électrodes) ainsi que la structuration des couches métalliques peuvent en être altérés. Pour tous les procédés 3D, nous avons utilisé des résines photosensibles épaisses pour surmonter les marches des structures 3D. La structuration du métal et du polyimide du procédé de fabrication des implants 3D sont similaires à celle des implants planaires présentée précédemment. Cependant, une différence concerne le procédé planaire où nous avons une inversion du procédé de fabrication. En effet, l'ouverture des électrodes et des plots de contacts s'effectue en fin de procédé (c'est-à-dire après le dépôt métallique et le deuxième dépôt de polyimide), contrairement au procédé 3D qui crée d'abord ces ouvertures dans le polyimide avant le dépôt métallique si bien que les électrodes et les plots contacts sont protégés jusqu'à la libération des implants. L'avantage avec le procédé planaire, et que l'on n'a pas avec le procédé 3D, est la possibilité de tester les

¹⁰ Appareil de laboratoire permettant la découpe d'un échantillon sous des températures cryogéniques

implants sous pointes¹¹ pour vérifier l'ouverture des électrodes avant leur libération. Nous avons malgré ces difficultés, pu obtenir des implants avec des électrodes 3D métalliques réalisées avec un moule obtenu avec la méthode DRIE et la gravure humide KOH (cf. Figure 88).

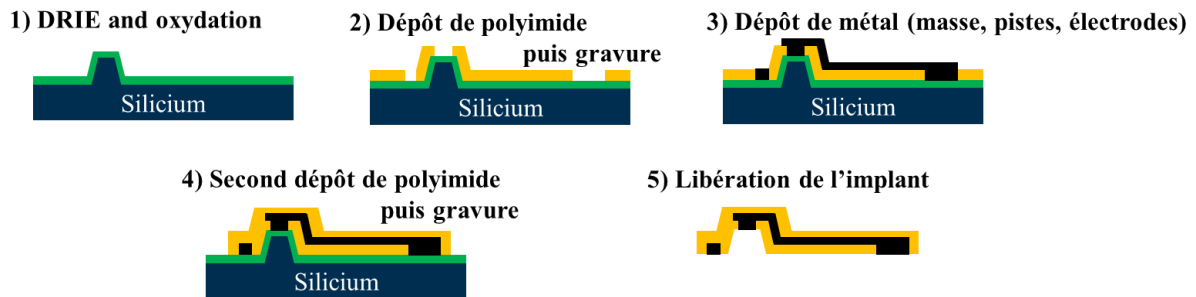


Figure 87 – Procédé de fabrication d'implants 3D avec des électrodes en métal.

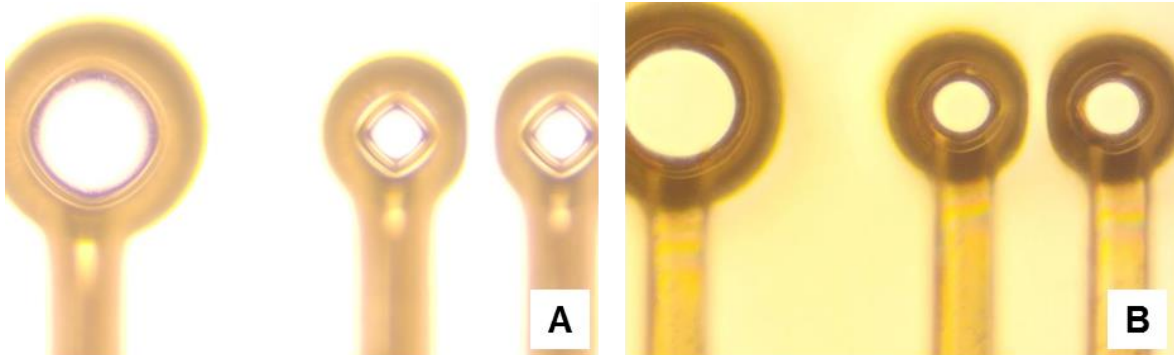


Figure 88 - Electrodes tridimensionnelles réalisées avec un moule réalisé en KOH (A) et en DRIE (B)

Les implants libérés ont été observés au MEB (Figure 89) où on remarque que la surface des électrodes en platine présente une certaine rugosité qui peut être attribué à la gravure DRIE du substrat. On peut remarquer que les différences de contrastes sur les électrodes sont dues aux effets de charge.

¹¹ Test de mesure électrique à l'aide de pointes métalliques

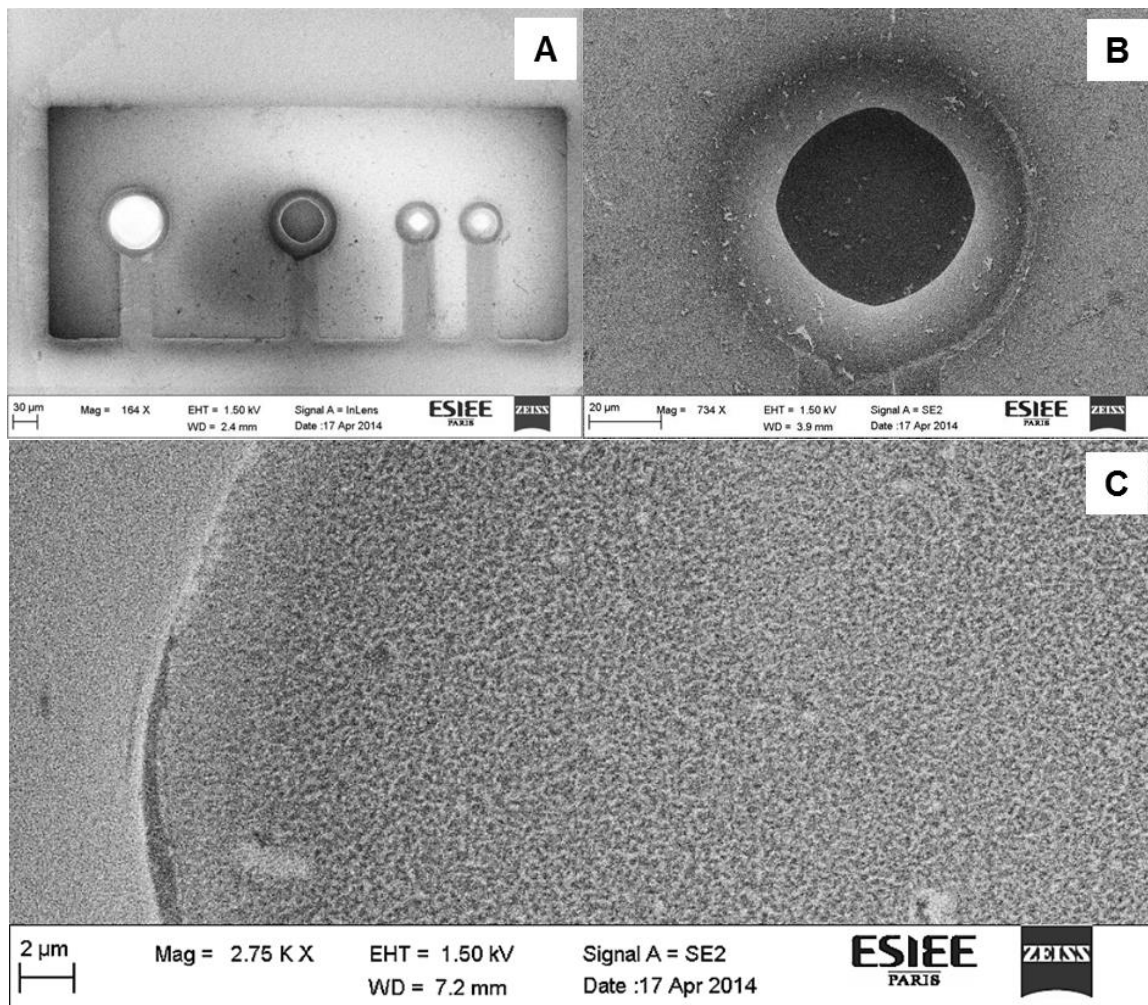


Figure 89 - Vues au MEB d'un implant 3D: 4 électrodes en platine et leur masse (A), zoom sur une grosse électrode (B) et sur la surface d'une électrode (C)

Du fait de la difficulté à réaliser ces implants 3D, nous avons un rendement très faible, c'est-à-dire moins de la moitié d'un substrat. Afin d'améliorer ce rendement, des solutions ont été envisagées mais n'ont pas pu être mises en pratique dans ces travaux. Elles seront néanmoins détaillées dans la conclusion et explorées dans la suite des projets en cours.

Nous avons ensuite pour réduire l'impédance des électrodes, électrodéposé du platine noir comme pour les implants planaires.

4.2.1 Electrodeposition de platine noir sur les implants 3D

Les mêmes paramètres d'électrodeposition de platine noir pour les implants planaires ont été utilisés pour les implants 3D. Les implants sont observés au MO et au MEB sous deux modes, Inlens qui fait ressortir les effets de charges qui créent un contraste où le métal ressort bien blanc et SE2 qui fait ressortir les topographies. En combinant l'observation au MO et au

MEB, nous déterminons plus facilement où le platine noir s'est déposé et s'il n'y a pas de dépôt ailleurs que sur les électrodes, ce qui serait le signe d'une mauvaise isolation du polyimide, d'un défaut de microfabrication ou de design de masque. Cela était le cas pour les premiers implants 3D (Figure 90) où du platine noir s'est déposé sur les pistes.

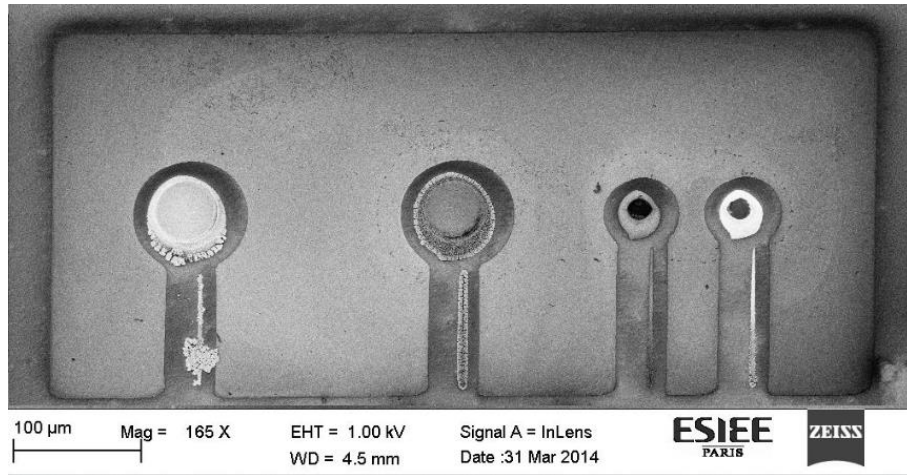


Figure 90 - Vue au MEB d'un implant 3D défilant où du platine noir s'est déposé sur les pistes

Pour le dépôt de platine noir, nous nous sommes heurtés à des problèmes de mouillabilité où la solution ne pénétrait pas suffisamment dans les puits. Rarement les 4 électrodes d'un implant ont pu être électrodéposées. Nous avons cependant pu le réaliser sur un implant qu'on a observé au MO (Figure 91) et au MEB (Figure 92).

Au MO, nous avons l'impression que le platine de la masse se délaminaient mais en regardant au MEB, nous nous apercevons que ce n'était pas le platine mais une fine couche de polyimide sur la masse qui n'a pas bien été gravée.

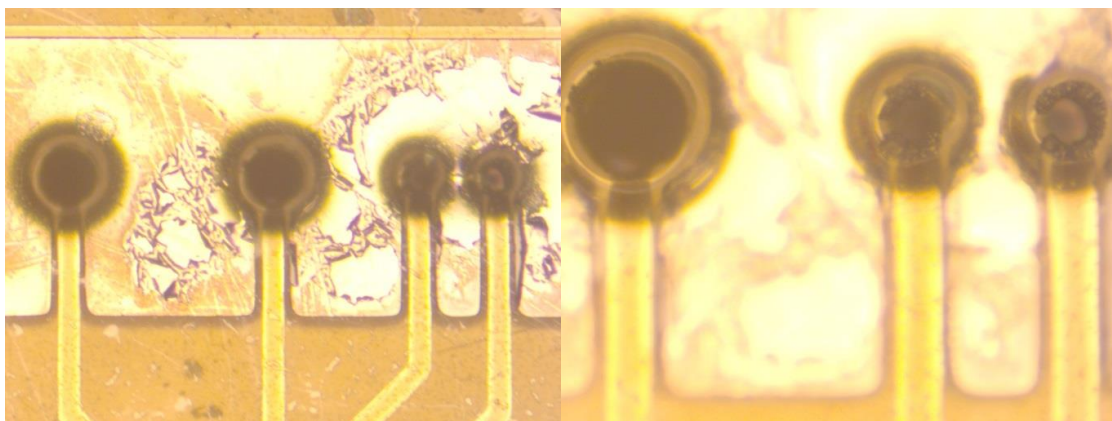


Figure 91 - Vue au MO d'un implant rétinien 3D avec 4 électrodes électrodéposées au platine noir

Au MEB, le fond des électrodes est électrodéposé de platine noir et on remarque que la morphologie du platine noir est différente pour les petites électrodes et les grandes comme pour les implants planaires où le courant de dépôt est différent selon les tailles d'électrodes.

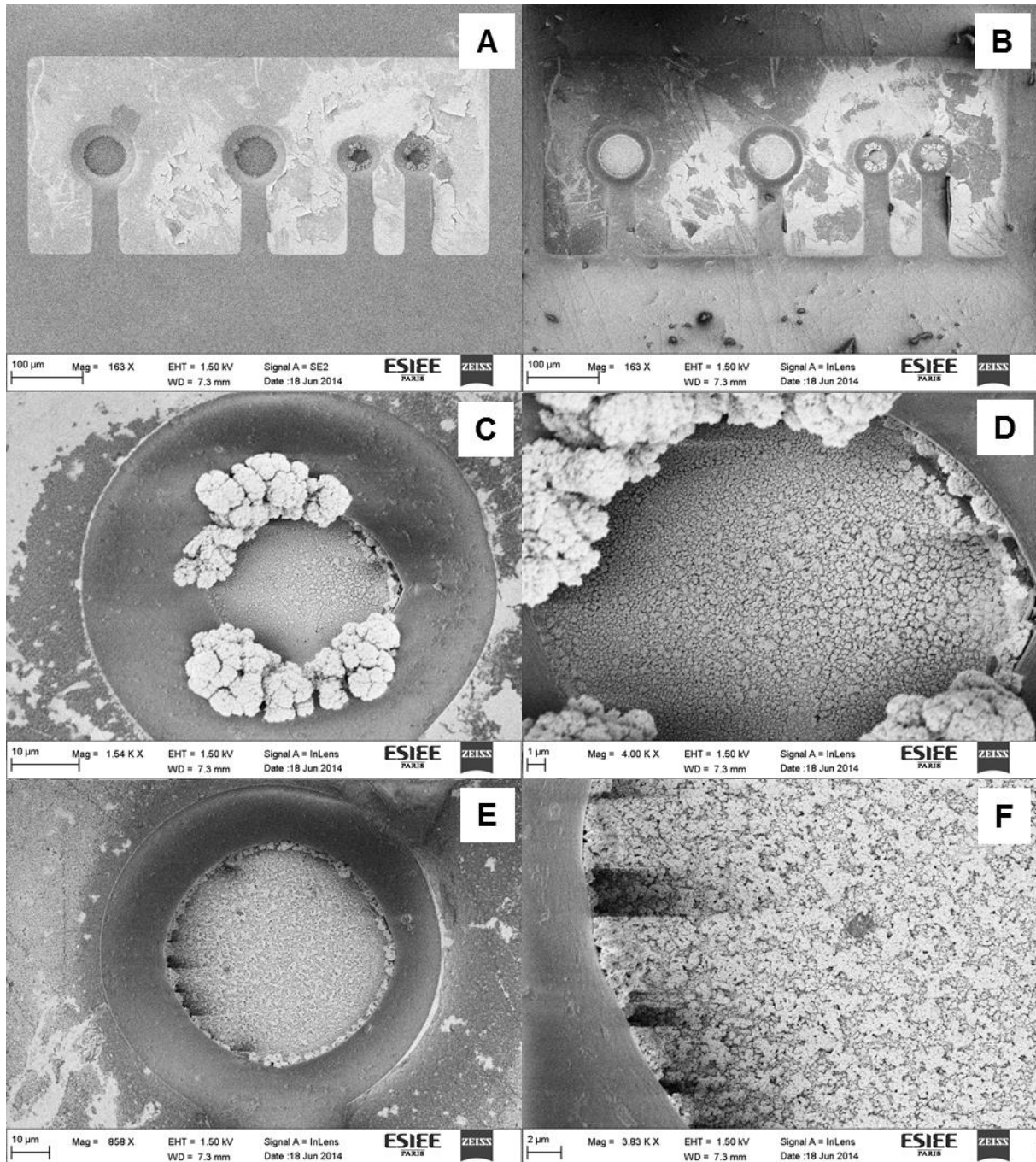
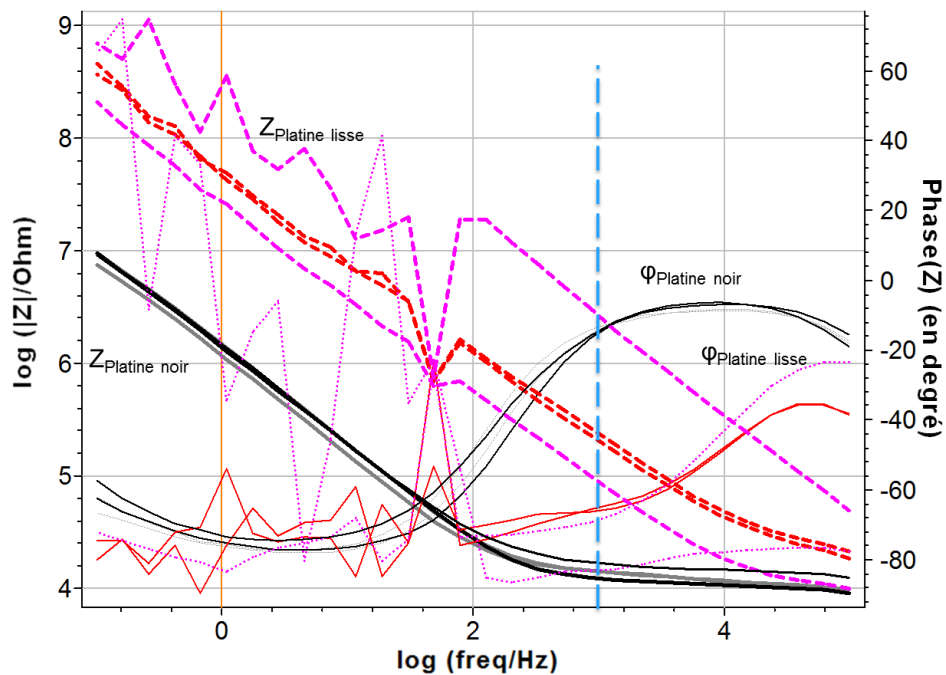


Figure 92 - Vues au MEB d'un implant 3D avec des électrodes en platine noir : 4 électrodes avec leur plan de masse en signal SE2 (A) et InLens (B), électrode de 30 µm (C) et son zoom (D) et électrode de 60 µm (E) et son zoom (F)

Des optimisations restent donc encore à réaliser afin d'obtenir un meilleur dépôt de platine noir au fond des cuvettes sans déborder de l'électrode.

4.2.2 Mesures électrochimiques d'implants rétiniens tridimensionnels avec des électrodes en métal

De même que pour les implants planaires, les électrodes métalliques sont recouvertes de platine noir. Nous pouvons remarquer sur le Graphe 11, qu'il y a une électrode de 60 μm avec une impédance plus élevée que les électrodes de 30 μm lors de la mesure dans le PBS qui peut s'expliquer par la présence d'une petite bulle d'air prise au sein de la cuvette puisqu'après le dépôt de platine noir, toutes les impédances ont diminué.

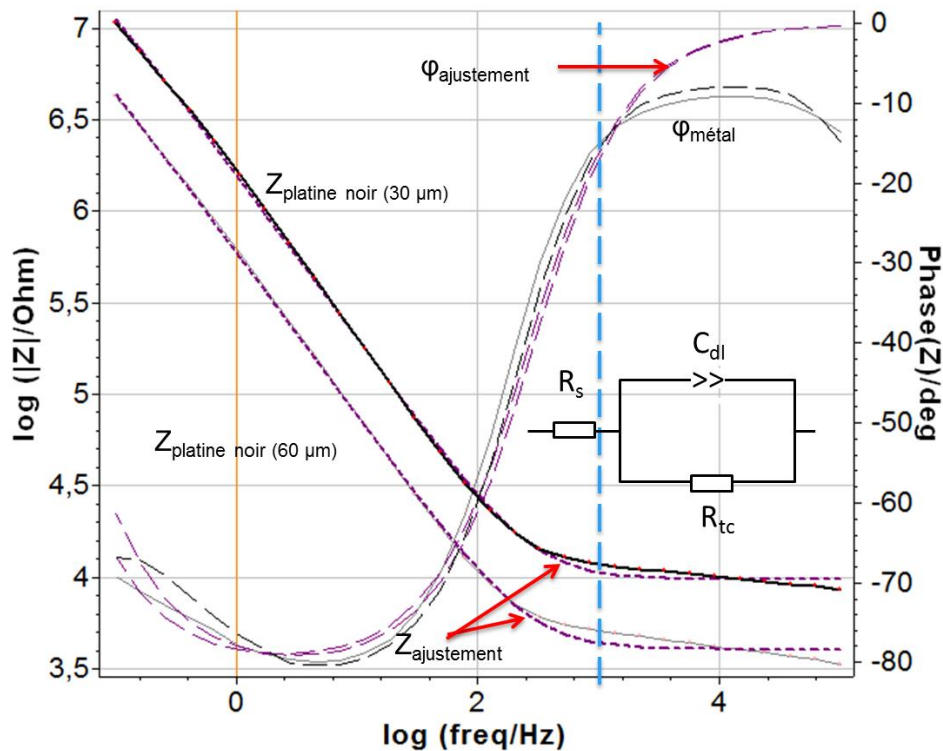


Graphe 11 - Diagramme de Bode: impédances (lignes et tirets épais) et phases (lignes fines et pointillés) d'électrodes 3D de 30 μm (rouge et noire) et de 60 μm (fuchsia et grise) avant dépôt (tirets) et après dépôt de platine noir (lignes épaisses)

Taille d'électrode	Avant dépôt platine noir	Après dépôt platine noir
30 μm	$Z=212\text{k}\Omega$ à 1kHz Phase : -66° à 1kHz	$Z=14,1\text{k}\Omega$ à 1kHz Phase: $-14,2^\circ$ à 1kHz
60 μm	$Z=81\text{k}\Omega$ à 1kHz Phase : -69° à 1kHz	$Z=12,3\text{k}\Omega$ à 1kHz Phase : $-15,1^\circ$ à 1kHz

Tableau 19 – Extraction à partir du logiciel VMP-300 des courbes du Graphe 3 de l'impédance et de la phase à 1kHz d'électrodes métalliques tridimensionnelles

Avec l'ajustement des courbes (Graphe 12), les valeurs de R_s , C_{dl} et CPE des électrodes 3D en métal ont été extraites et regroupées dans le Tableau 20. Comme précédemment, les déviations de R_t , C_{dl} et CPE sont faibles ce qui signifie que le modèle utilisé est correct.



Graphe 12 - Diagramme de Bode d'une électrode 3D de 30 μm (courbe noire) et de 60 μm (courbe grise) après dépôt de platine noir et leurs courbes d'ajustement (pointillés violets)

Taille d'électrode	Avant dépôt platine noir		Après dépôt platine noir	
	Valeurs	Déviations	Valeurs	Déviations
30 μm	$R_s=15,7\text{k}\Omega$	1	$R_s=17\text{k}\Omega$	0,241
	$C_{dl}=1,6\text{nF}$		$C_{dl}=17,7\text{nF}$	
	$Q=1,6\text{nFs}^{(\alpha-1)}$, $\alpha=1$	1	$Q=8,8\text{nFs}^{(\alpha-1)}$, $\alpha=0,83$	$0,4 \cdot 10^{-15}$
	$R_{tc}=1,2 \cdot 10^{21}\Omega$	2,45	$R_{tc}=3,5 \cdot 10^9\Omega$	2730
60 μm	$R_s=7,2\text{k}\Omega$	1	$R_s=10,7\text{k}\Omega$	0,364
	$C_{dl}=6,0\text{nF}$		$C_{dl}=116\text{nF}$	
	$Q=6,0\text{nFs}^{(\alpha-1)}$, $\alpha=1$	1	$Q=112\text{nFs}^{(\alpha-1)}$, $\alpha=0,81$	$2,7 \cdot 10^{-12}$
	$R_{tc}=97,3 \cdot 10^6\Omega$	0,725	$R_{tc}=29,4 \cdot 10^{18}\Omega$	106

Tableau 20 - Extraction des fit de R_s , C_{dl} et R_{tc} d'électrodes 3D en platine noir

Les caractéristiques des implants 3D obtenus après le dépôt de platine noir est moins reproductible du fait de la difficulté de la solution à pénétrer dans la cavité des électrodes mais reste néanmoins similaire aux électrodes planaires.

Nous trouvons avec ce procédé 3D, les mêmes caractérisations électrochimiques que les implants planaires. Il faut cependant améliorer encore les rendements de fabrication.

4.3 Procédé de fabrication 3D avec des électrodes en diamant

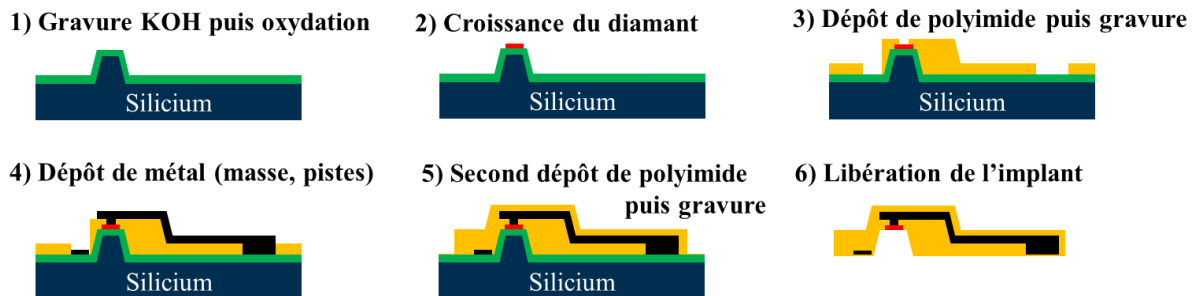


Figure 93 - Procédé de fabrication d'implant 3D avec des électrodes en diamant

Le procédé de fabrication 3D avec des électrodes en diamant consiste à intégrer la structuration et la croissance des électrodes en diamant (présentées en §2.1.2) au procédé de fabrication 3D avec des électrodes métalliques. Les étapes suivantes pour la création des pistes et contacts ainsi que la structuration du polyimide sont identiques au procédé précédent. Les implants 3D en diamant ont été validés en histologie [79] mais malheureusement pour des problèmes techniques survenus sur la synthèse du diamant les implants rétinien fonctionnels n'ont pas pu être réalisés.

5. Conclusion

Nous avons développé et réalisé des implants rétinien planaires en métal (platine et or) et en diamant et des implants rétinien 3D en platine. Pour réduire l'impédance des électrodes métalliques, nous avons réalisé une électrodéposition de platine noir. Ce dépôt rend les électrodes plus homogènes du point de vue de l'impédance, qui est réduite significativement.

Les performances du platine noir et du diamant dopé sont déterminées et comparées au moyen de caractérisations électrochimiques.

Le diamant montre une meilleure performance électrochimique par rapport aux autres électrodes métalliques car il possède la plus grande fenêtre de potentiel dans le PBS qui détecte donc mieux les réactions à des potentiels extérieurs à la fenêtre de l'eau et par conséquent reflètera mieux ce qui se passe in-vivo [136]. Du fait de sa morphologie de surface, les impédances des électrodes en diamant sont plus basses que les électrodes

métalliques qui n'ont pas subi de modification de surface. Cependant, la capacité de double couche du diamant dopé est légèrement meilleure à celles des électrodes non traitées mais elle peut être augmentée par modification de la surface de l'électrode, point que nous aborderons dans la conclusion générale et les perspectives.

La réalisation de ces implants nous mène au dernier chapitre où des expériences biologiques vont nous permettre de suivre les performances in-vivo afin de valider ce concept 3D et de focalisation de stimulation dans un objectif ultime de réhabilitation sensorielle.

Chapitre 4 : Expériences biologiques

Dans ce chapitre, nous réaliserons des mesures biologiques afin de valider le bon fonctionnement de nos MEA. Toutes ces expériences ont été réalisées en collaboration avec les différents partenaires, l'INCA et l'IDV qui sont impliqués respectivement dans le projet de réhabilitation motrice et sensorielle. Avec les MEA rigides fabriquées au Chapitre 2, des enregistrements seront effectués avec les différentes géométries de MEA (planaire et fourchette) développées spécifiquement pour les tissus étudiés et leur sensibilité sera comparée avec celle des MEA existantes. Avec les implants rétiniens souples fabriqués au Chapitre 3, des enregistrements seront réalisés in-vivo au cours du temps pendant plusieurs semaines afin d'étudier l'évolution des performances des implants et les propriétés de l'interface électrode/tissu pendant la période in-vivo.

6. MEA planaires rigides

Dans un premier temps, deux séries d'enregistrement sont réalisées avec les MEA rigides diamant fabriquées : la première est celle d'un signal extracellulaire d'une moelle épinière d'un embryon de souris sur une MEA 4×15 et la seconde est celle de signaux extracellulaires spontanés d'une rétine de rat sur une MEA 8×8.

Dans un second temps, une géométrie de MEA rigide plus pénétrante en forme de fourchette sera testée.

Tous ces enregistrements ont été réalisés à selon un protocole défini initialement par l'INCA et à l'aide de banc de mesure électrophysiologique que nous allons décrire ci-après.

6.1 Description du banc de mesure et protocole de préparation des échantillons

Les enregistrements in-vitro ont été réalisés avec un banc de mesure électrophysiologique à l'IDV pour les mesures concernant la rétine (Figure 94) et à l'INCA pour celles avec la moelle épinière (Figure 95). Le banc de l'INCA est entourée d'une cage de Faraday afin de réduire les perturbations électromagnétiques et d'acquérir de meilleurs signaux.

Les bancs de mesure comportent un microscope binoculaire qui permet de positionner et observer le tissu ; une pompe péristaltique qui maintient la préparation en vie par un apport de solution physiologique (liquide de Ringer) thermostatée et oxygénée ; et des micromanipulateurs qui permettent de bien placer et positionner les échantillons.



Figure 94 - Banc de mesure d'électrophysiologie pour l'enregistrement d'une rétine (IDV)

Pour les enregistrements de rétine, un rat a été euthanasié, son œil est récupéré et sous microscope binoculaire, l'œil est ensuite découpé et la rétine est séparée de la choroïde et prélevée pour être déposée sur la MEA.

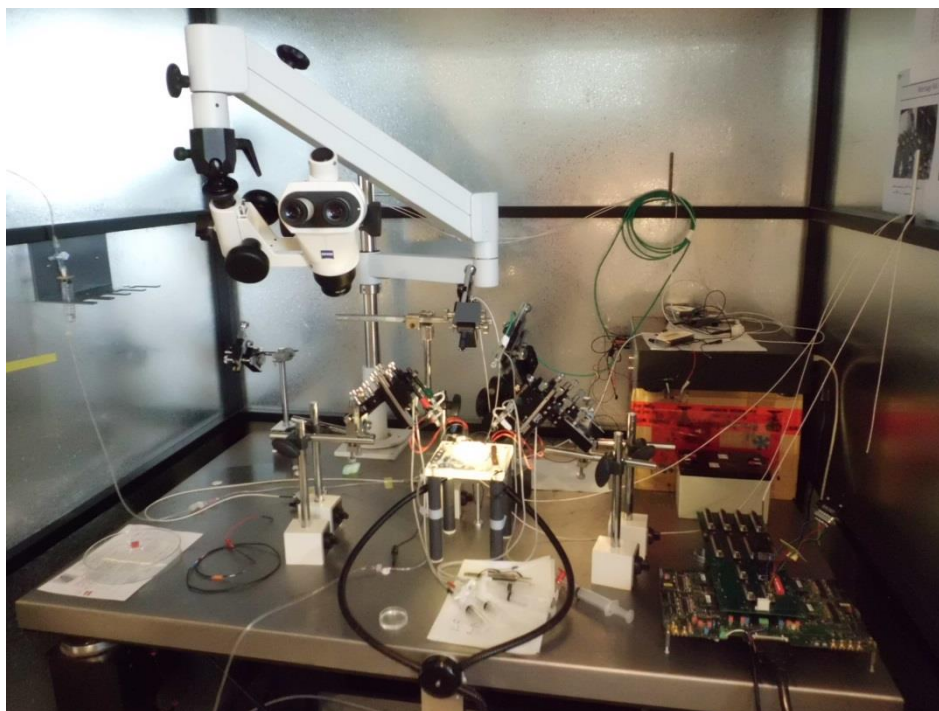


Figure 95 - Banc de mesure d'électrophysiologie pour l'enregistrement d'une moelle épinière (INCIA)

Pour les enregistrements de moelle épinière, un raton de 2 mois (Figure 96 (A)) a été euthanasié afin de récupérer le bulbe rachidien et la moelle épinière (Figure 96 (B)). Ensuite, la préparation est disposée différemment selon les types de MEA testées. Pour des MEA rigides, elle est placée sur ces dernières et immergée de solution physiologique tandis que pour des fourchettes MEA, elle est placée dans une boîte de Pétri contenant au fond du PDMS (permettant d'y fixer la moelle épinière à l'aide d'épingles). Pour cette dernière expérience, quatre électrodes de succion viennent se placer au niveau des racines ventrales de la moelle pour enregistrer les activités des CPG (Central Pattern Generator) (Figure 96 (B et C)) et la MEA fourchette est insérée dans la moelle pour repérer ces CPG.

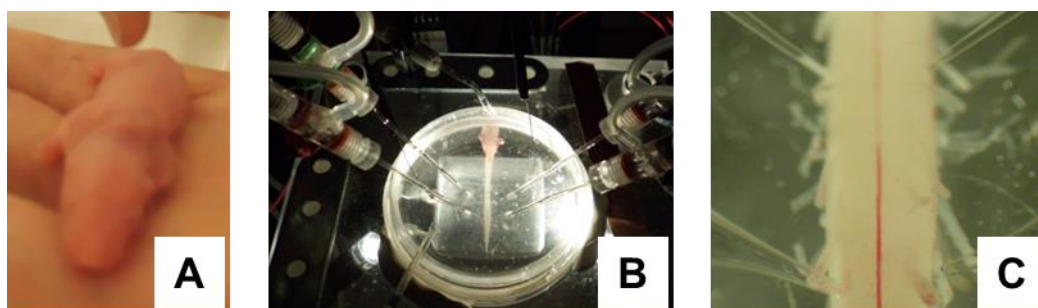


Figure 96 - Raton âgé de 2 jours (A), moelle épinière avec son bulbe rachidien prélevé chez le raton (B) et zoom sur les électrodes de succion (C)

Les signaux sont amplifiés, multiplexés et numérisés afin de visionner les enregistrements sur ordinateur.

Nous allons voir dans la partie suivante avec les partenaires concernés, les différents enregistrements que nous avons effectués avec les dispositifs fabriqués au cours de cette thèse.

6.2 MEA planaire en diamant

6.2.1 Enregistrement de la moelle épinière avec une MEA 4×15



Figure 97 – Préparation d’une moelle épinière de rat sur une MEA diamant 4×15 (gauche) et enregistrement d’un potentiel d’action avec celle-ci (droite)

Une moelle épinière entière d’un embryon de souris a été préparée selon le protocole décrit précédemment pour effectuer des enregistrements avec la MEA 4×15 en diamant et des résultats préliminaires ont été obtenus avec des signaux similaires à ceux enregistrés avec une MEA commerciale en platine en [137] (Figure 97).

Ces enregistrements montrent que les MEA en diamant peuvent détecter une activité spontanée composée d’un pic de potentiel d’action avec une amplitude dans une gamme de quelques microvolts avec approximativement un niveau de bruit de $5 \mu\text{V}_{\text{RMS}}$ et qui dure pendant quelques secondes.

6.2.2 Enregistrements de la rétine in-vitro avec une MEA 8×8

Concernant la deuxième expérience, une rétine explantée de rat est placée sur la MEA avec les cellules ganglionnaires en contact avec les électrodes telles que représenté sur le dessin de la Figure 98 (à gauche). Des enregistrements extracellulaires d’activité spontanée d’une rétine de rat explantée sur une MEA 8×8 en diamant est montrée en Figure 98 (à droite). Ils ont été

enregistrés sur plusieurs électrodes parmi lesquelles deux enregistrements de deux électrodes différentes sont présentés sur la Figure 98 (A) avec environ $10 \mu\text{V}_{\text{RMS}}$ de niveau de bruit. Un grossissement sur l'enregistrement permet d'observer sur la Figure 98 (B), la forme typique d'un potentiel d'action enregistré.

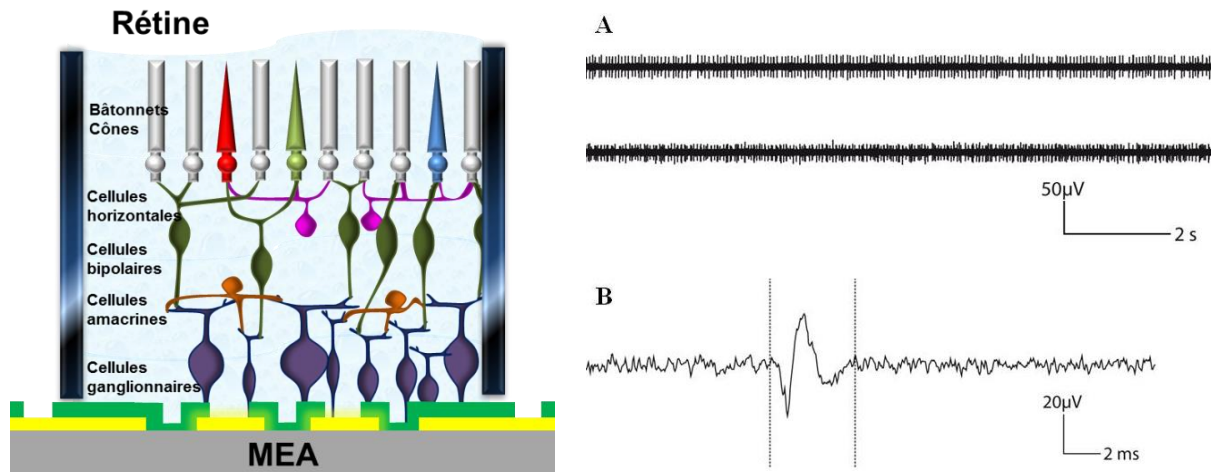


Figure 98 – Représentation d'une rétine sur une MEA utilisée pour mesurer les spikes neuronaux spontanés et provoqués (gauche) et activité spontanée d'une rétine enregistrée avec une MEA diamant 8x8 (droite) : trace enregistrée pendant 10 min (A) et zoom sur une forme typique d'un potentiel d'action enregistré (B)

Notre partie expérimentale réalisée sur les deux préparations (moelle épinière et rétine) démontre que les MEA en diamant sont efficaces pour des enregistrements neuronaux. Ces premières expériences in-vitro démontrent que le concept des microélectrodes de diamant fonctionne correctement sur différents tissus et présente des performances similaires aux MEA existantes (cf. Tableau 21). De plus, les MEA diamant seraient plus robustes que les MEA actuelles à long terme car les électrodes peuvent être nettoyées et le diamant réactivé par voie électrochimique (technique développée dans le cadre d'une thèse [71]). Des améliorations sont possibles afin d'optimiser davantage ces matériaux et elles seront abordées dans la conclusion générale.

Type d'électrode	Impédance / bruit	Reference
Platine noir (30 μm de diamètre)	10 k Ω à 1kHz / 1 μV_{RMS}	[13]
Diamant (30 μm de diamètre)	70 k Ω à 1kHz / 5 μV_{RMS}	[28]
Titane (30 μm de diamètre) Fabriquée et commerciale	4.9 à 7.1 μV_{RMS}	[29]
ITO recouvert de Pt (20 et 50 μm de diamètre)	10 et 30 k Ω à 1kHz	[30]

Tableau 21 – Comparaison d'impédance ou de bruit de plusieurs micro-électrodes existantes

Dans la partie suivante, nous testons une autre géométrie de MEA plus pénétrante afin de pouvoir s'insérer dans les tissus et enregistrer les activités électriques des neurones situées à différentes profondeurs du tissu.

6.3 MEA fourchettes

6.3.1 Enregistrement sur moelle épinière de raton

Les manipulations menées à Bordeaux par notre partenaire, l'INICIA, qui développe des stratégies neuroélectroniques pour la réhabilitation d'une moelle épinière lésée et modélise la stimulation électrique extracellulaire pour la compréhension des mécanismes et l'amélioration de la sélectivité spatiale.

Les fourchettes réalisées doivent pénétrer dans différents segments de la moelle épinière afin de rechercher les zones optimales pour enregistrer mais aussi stimuler ces CPG (Figure 99).

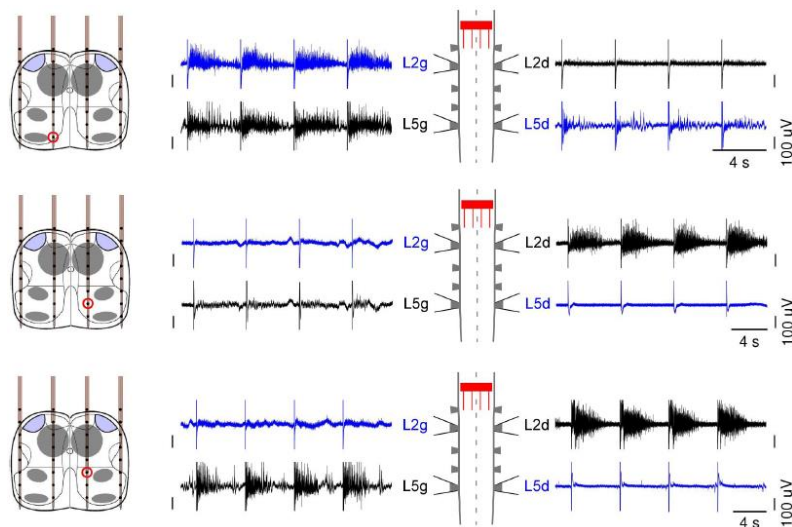


Figure 99 - Recherche des zones optimales de stimulation des CPG (Central Pattern Generator).

Nous avons dans un premier temps testé la résistance mécanique des MEA fourchettes en silicium en les faisant pénétrer dans la moelle épinière (Figure 100). On observe que les dents d'une épaisseur de 50 μm sont résistantes et ne cassent pas lors de l'insertion et du retrait du bulbe rachidien du raton. Sur les images, on peut même distinguer les petites électrodes en platine noir au niveau des dents avant leur insertion dans le bulbe rachidien (Figure 100 (B)).

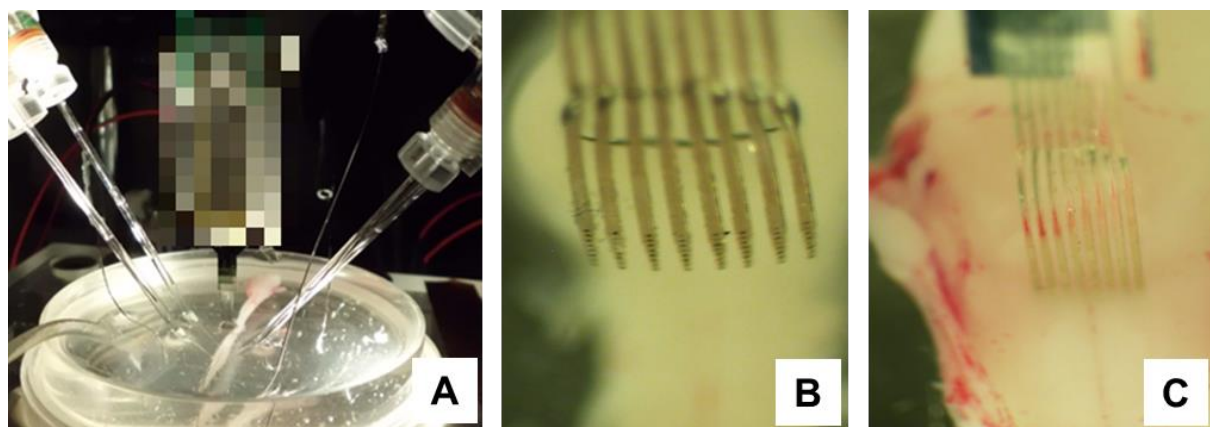


Figure 100 – MEA fourchettes : montage d’une fourchette en silicium (A) et son zoom avant (B) et après (C) avoir pénétré dans le bulbe rachidien

Nous avons aussi tenté d’effectuer des enregistrements avec nos MEA fourchettes mais des soucis matériels rendent ne nous ont pas permis d’obtenir des enregistrements exploitables. Nous avons cependant l’enregistrement d’une MEA fourchette en verre avec des dents non libérées où les signaux de 4 électrodes en platine lisse sont représentés (Figure 101). On peut voir que la première électrode n’est pas fonctionnelle. Les trois autres électrodes montrent l’enregistrement d’une activité rythmique qui n’est pas liée à l’activité du tissu mais à du bruit lié au secteur (50 Hz) et d’amplitude d’environ 50 μ V (crête à crête). Ce niveau de bruit élevé est probablement dû à un problème d’isolation au secteur. Des investigations sont en cours pour comprendre l’origine de ces résultats de mesures.

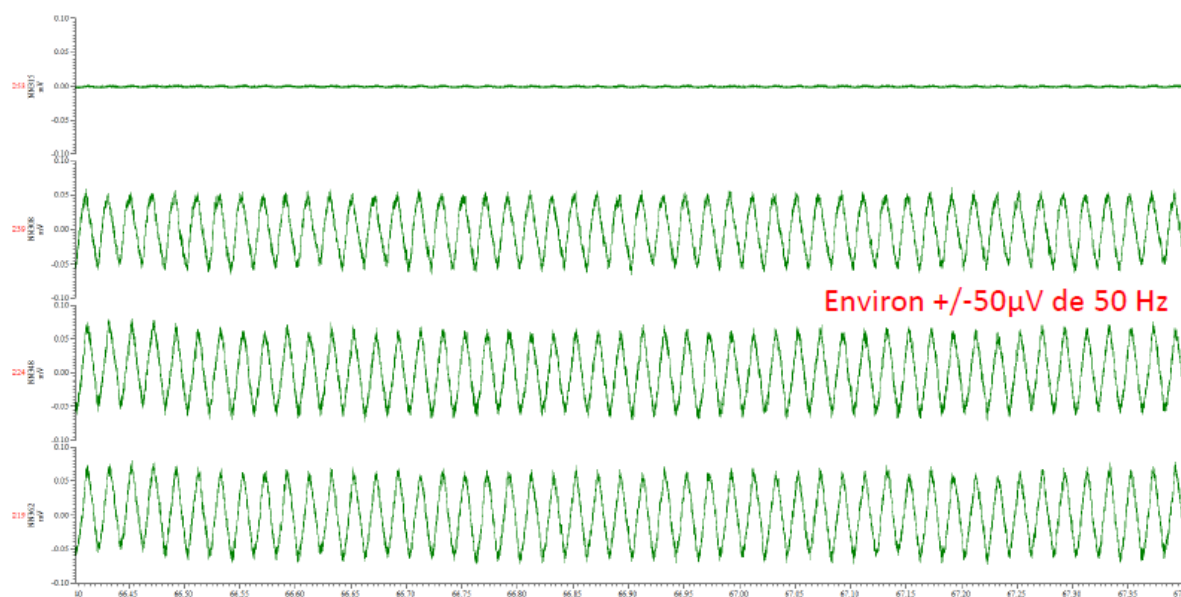


Figure 101 - Enregistrement d’une fourchette en verre avec des électrodes en platine lisse

Des mesures d'enregistrements se poursuivent actuellement avec les électrodes en platine noir afin de pouvoir être en mesure d'effectuer des comparaisons.

Suite au déménagement de notre partenaire à l'INCLIA de Bordeaux l'année dernière, les manipulations sur les moelles épinières de rat ont été différées. Le laboratoire se remonte actuellement à Grenoble, c'est pourquoi pour l'instant, peu de mesures ont été réalisées dans le cadre de cette thèse.

6.4 Récapitulatif

Nous avons validé le fonctionnement in-vitro des électrodes en diamant et effectué des enregistrements classiques d'activités électriques neuronales. Cette capacité à enregistrer des signaux électriques provenant de la rétine ou de la moelle épinière serviront à mieux comprendre l'activité neuronale (fréquences des potentiels d'actions), leur fonction et leur relation ainsi que l'emplacement spatial des différentes cellules neuronales notamment dans le cas des cellules rétinienne où leur emplacement spécifique code les informations visuelles. Ces données seront en effet utiles pour l'étude de maladies rétinienne (par exemple, la rétinite pigmentaire et la DMLA¹²) afin de développer de meilleures interfaces entre les neurones et les dispositifs microélectroniques (tels que des implants rétinien).

En ce qui concerne les fourchettes MEA, les enregistrements se poursuivent actuellement.

Nous verrons dans la partie suivante que lorsque les MEA sont introduits dans des milieux biologiques considérés comme agressifs pour les électrodes, des changements d'impédance des interfaces électriques se produisent, impliquant le questionnement de la fiabilité et de la tenue à long terme des MEA.

7. Implants rétinien

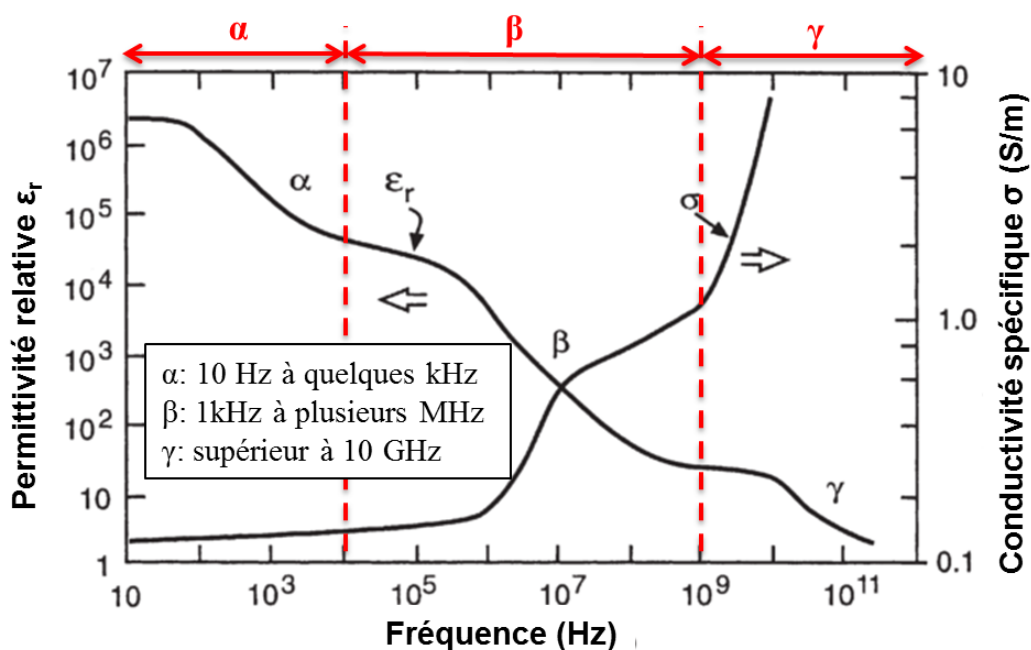
7.1 Principe des mesures in-vivo

Lorsque les électrodes sont placées en milieu biologique ou lorsqu'elles sont en contact avec un tissu, la mesure d'impédance permet d'évaluer les propriétés électrochimiques de celles-ci mais aussi de mesurer les propriétés diélectriques du milieu ou du tissu en lui injectant un courant constant à différentes fréquences et en mesurant les tensions qui en résultent.

¹² Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age

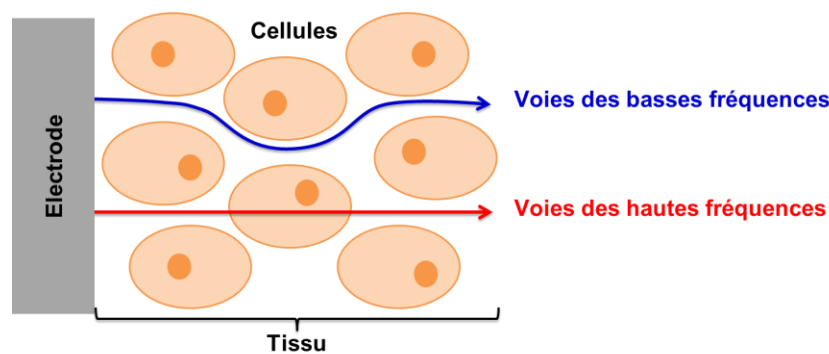
Précédemment (Chapitre 2 et Chapitre 3), nous avons observé le comportement nos électrodes dans un milieu biologique simplifié représenté par le PBS.

Nous allons voir dans cette partie, le comportement in-vivo de l'impédance de nos électrodes où dans la littérature, celle-ci peut être identifiée aux propriétés électriques du tissu, à savoir la conductivité σ et la permittivité ϵ . La conductivité peut être considérée comme la mesure de l'aptitude de ses charges à être transportées à travers son volume tandis que la permittivité, comme la mesure de l'aptitude de ses dipôles à tourner ou à ses charges d'être stockées par l'application d'un champ électrique externe. A basses fréquences, le matériau d'électrode se comporte comme un conducteur mais des effets capacitifs deviendront plus importants à hautes fréquences. De plus, le comportement dépendra aussi de l'hétérogénéité des tissus. Pour la plupart des matériaux, leurs propriétés varient avec la fréquence du signal appliqué. Ces variations sont appelées dispersion. Les électrodes en contact avec les tissus biologiques mesureraient donc plusieurs dispersions différentes sur une large gamme de fréquences ([138], Graphe 13). La dispersion de l'impédance électrique au sein d'un tissu biologique est souvent séparée en 3 régions : α , β et γ . L'origine de la dispersion α n'est pas bien comprise et elle serait due à la charge et à la décharge des cellules. La dispersion β est causée principalement par les chargements capacitifs des membranes externes des cellules et la dispersion γ est due à la polarisation des molécules d'eau.



Graphe 13 - Permittivité et conductivité en fonction de la fréquence d'un matériau hétérogène telle que les tissus biologiques [138], [139]

Une autre manière d'interpréter l'allure de la courbe peut être expliquée par l'écoulement du courant à travers un tissu biologique en fonction des fréquences. Aux basses fréquences, presque tout le courant s'écoule seulement à travers l'espace extracellulaire et donc l'impédance totale est très résistive. Cette impédance est équivalente à celle de l'espace extracellulaire d'où une impédance élevée. Aux hautes fréquences, le courant peut traverser les membranes des cellules et donc entrer dans l'espace intracellulaire également. Le courant peut alors avoir accès aux ions conducteurs dans l'espace extra et intracellulaire. L'impédance globale est donc plus faible [140] et plus capacitive.



Graph 14 – Schéma d'écoulement du courant à travers un tissu biologique

7.2 Chirurgie oculaire pour la pose d'implant dans l'œil du rat.

Afin de tester les implants in-vivo, des rats P23H ont été sélectionnés car ils présentent une dégénérescence des photorécepteurs la rétine identique à la pathologie rétinienne exprimée chez l'homme. Tous les deux mois, une vingtaine de rats sont livrés à l'IDV et sont dédiés aux implantations. Par conséquent, nous avons dû fournir un apport régulier en implants (développement en salle blanche décrit au Chapitre 3).

La mise en place de l'implant chez le rat est une étape critique car durant la chirurgie, l'implant peut être endommagé pendant l'insertion et la position de la tête de l'implant comportant les microélectrodes dans la rétine peut ne pas être optimale ou il peut y avoir une hémorragie et dans le pire des cas, le décès du rat. Tous ces événements rendent les mesures d'impédance plus difficiles à interpréter.

Un protocole chirurgical a donc été mis en place afin d'optimiser et faciliter l'insertion et le positionnement de l'implant. La chirurgie complète nécessite au moins 1h30 de travail et se divise en deux parties.

La première partie est l'immobilisation de la connectique sur la tête du rat où les différentes étapes sont représentées sur la Figure 102. Elle est importante car la connectique doit tenir assez longtemps afin d'effectuer toutes les mesures d'impédances nécessaires. Dans un premier temps, le rat est anesthésié et le haut de sa tête est rasé et immobilisé par un appareil stéréotaxique. Puis une incision de la peau est réalisée à l'aide d'un scalpel. Des écarteurs maintiennent la peau pour exposer le crâne. Quatre vis sont positionnées sur le crâne pour permettre le maintien de la connectique de l'implant. La tête de l'implant (avec les microélectrodes) est insérée dans une canule qui permet son passage transcutané pour ressortir au niveau de l'œil. Durant cette étape, on peut voir que l'implant manipulé doit être assez flexible pour se courber sans se plier ou se casser. Ensuite, la connectique est alors fixée entre les 4 vis à l'aide de ciment dentaire sur le crâne pendant 2 mois (durée pour laquelle l'autorisation d'expérimenter sur les animaux a été accordé).

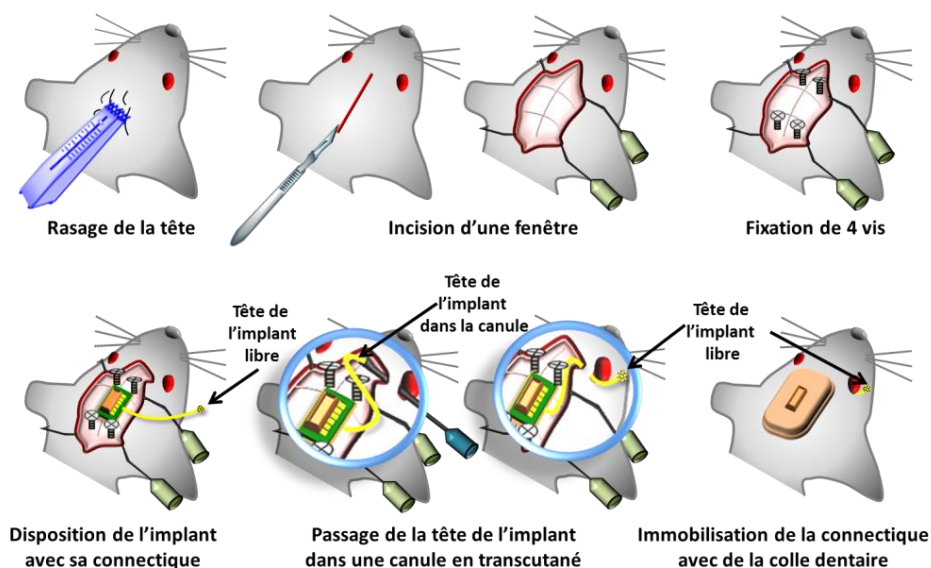


Figure 102 - Chirurgie d'immobilisation de la connectique sur la tête du rat

La seconde partie, sous microscope opératoire, est la microchirurgie qui consiste à mettre la tête de l'implant en sous-rétinien (Figure 103). C'est une chirurgie complexe qui demande une certaine dextérité du chirurgien étant donné la taille de l'œil du rat (environ 6 mm de diamètre). La conjonctive¹³ est incisée pour mettre en vue la sclère¹⁴. Une petite incision

¹³ Membrane de l'œil recouvrant la partie intérieure de la paupière et le blanc de l'œil

sclérale est réalisée à l'aide d'un scalpel et un gel ophtalmique est injecté à l'aide d'une seringue pour décoller la rétine de la choroïde¹⁵. L'implant est ensuite inséré dans l'espace sous-rétinien. Ici encore, la manipulation de la tête de l'implant est délicate car elle peut être abîmée lors du maniement.

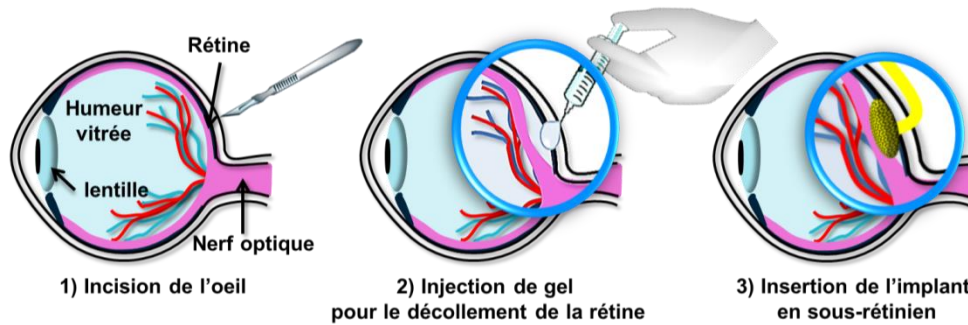


Figure 103 – Chirurgie oculaire d'insertion de l'implant en position sous-rétinienne

Les animaux sont ensuite transférés dans des zones de réveil puis chaque rat est logé individuellement dans une cage après la chirurgie.

Durant ces séries d'implantation d'une vingtaine de rats, de nombreux problèmes surviennent notamment à l'étape de la chirurgie où des rats décèdent pendant ou après la chirurgie sous anesthésie et à l'étape des imageries où ils sont anesthésiés de nouveau. Ces décès peuvent être liés à l'anesthésie mais on remarque que d'autres rats peuvent décéder aussi quelques jours après la chirurgie. Cela représente environ un quart des pertes. Les plus importantes pertes sont les rats dont l'implant n'est pas en position sous rétiniennne et/ou sort complètement de l'œil ou bien l'œil du rat présente une opacité du cristallin après la chirurgie. Ceux-là sont sacrifiés car ils ne pourront pas donner de résultats exploitables pour notre étude. De plus, les garder représente également un coût journalier pour l'IDV de les entretenir. D'autres implants présentent des électrodes ne faisant pas face à la rétine, ceux-là également ne seront pas pris en compte dans l'étude. Pour certains autres, la rétine ne se recollera jamais à l'implant car par exemple, une trop grande quantité de gel pour le décollement a été utilisé et a ensuite du mal à s'évacuer. Des optimisations concernant les chirurgies restent encore un point important à améliorer. Finalement, nous pourrons suivre seulement environ un quart des rats.

¹⁴ Membrane formant le blanc de l'œil

¹⁵ Membrane de l'œil placée entre la rétine et la sclère

7.3 Protocole des mesures in-vivo

Nous avons mis en place un protocole expérimental qui assure le suivi des implants depuis leur fabrication jusqu'à leur implantation. Ce suivi permet une traçabilité de chaque implant pour un meilleur contrôle de la qualité et des performances des implants.

Afin de faciliter les mesures in-vivo, il était nécessaire de trouver un système de branchement simple et stable dans le temps (8 semaines) permettant la connexion et la déconnexion rapide de l'implant aux appareils de mesures. Ce système représenté sur la Figure 104 est composé de deux PCB reliés dont l'un établit le contact électrique avec l'implant et l'autre avec le connecteur qui effectue la liaison avec les appareils de mesure.

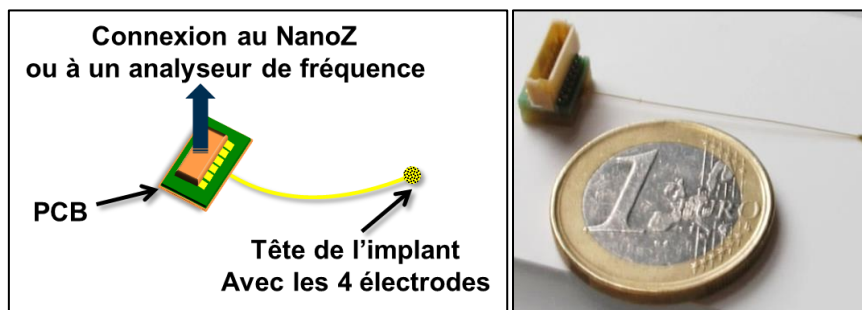


Figure 104 - Implant rétinien monté sur PCB

Après la microfabrication, le tri et la caractérisation électrochimique des implants montés sur PCB, les meilleurs dispositifs sont sélectionnés pour être envoyés à l'IDV où ils sont implantés dans l'œil des rats. Des mesures d'impédances dans le gel de décollement de la rétine ont été réalisées pour quelques implants avant l'implantation afin d'avoir un ordre de grandeur de l'impédance dans ce milieu pendant 8 semaines. Après l'implantation, une fois par semaine et pendant 2 mois, les impédances des implants sont relevées et des imageries de fond d'œil et d'OCT (Optical Coherence Tomography, [141]) sont prises. Le protocole expérimental est schématisé sur la Figure 105.

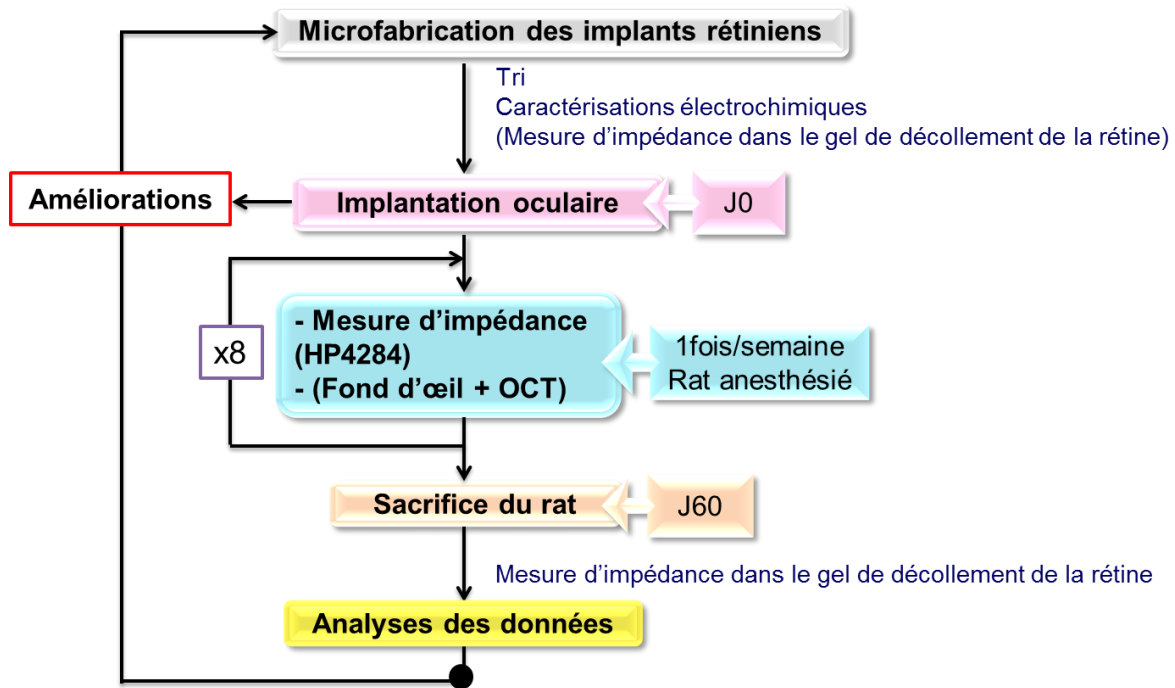


Figure 105 – Protocole expérimental complet

Les toutes premières mesures ont été réalisées avec le NanoZ de MCS mais par la suite un analyseur d'impédance de type LCRmètre (HP4284) (Figure 106) est utilisé car il est plus précis et peut effectuer un balayage en fréquence entre 20 Hz et 1 MHz, avec un niveau de tension contrôlable limitant les courants injectés dans les électrodes en dessous de 100 μ A typiquement. L'inconvénient est la saisie manuelle de toutes les fréquences pour chaque électrode, ce qui demande une grande rigueur dans la préparation des manipulations et l'analyse d'un gros volume de données.



Figure 106 – Enregistrement in-vivo avec le NanoZ (gauche) ou avec un analyseur d'impédance de type LCRmètre (HP4284) (droite)

En complément des mesures d'impédances, des images de fond d'œil sont réalisées pour contrôler la position de l'implant dans l'œil tandis que les images d'OCT¹⁶ (sont des coupes virtuelles du milieu [141]), pour observer le recollement de la rétine sur l'implant. Sur la Figure 107, des exemples d'images de fond d'œil et d'OCT sont présentées. Sur l'image du fond d'œil (Figure 107 - A), l'implant est inséré en position sous-rétinienne et on peut apercevoir derrière l'implant, une tâche sombre qui correspond au nerf optique. Sur l'image d'OCT (Figure 107 - B), nous avons une vue en coupe de l'implant (qui apparaît en surbrillance) et de la rétine où l'implant est en position sous-rétinienne c'est-à-dire placé entre la rétine et la membrane de l'œil. Nous pouvons considérer que nous avons un bon recollement de la rétine lorsque celle-ci recouvre l'implant comme c'est le cas ici sur la Figure 107. L'implant doit avoir ses électrodes faisant face à la rétine.

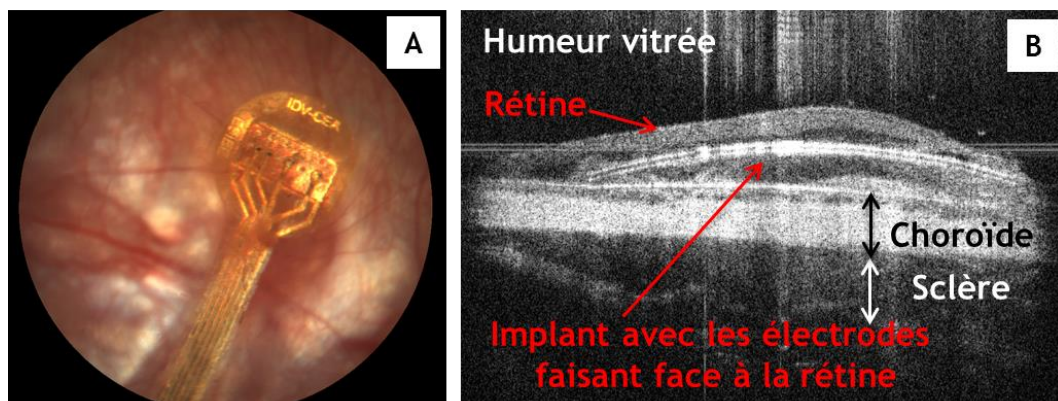


Figure 107 – Exemple d'imageries de fond d'œil (A) et d'OCT (B)

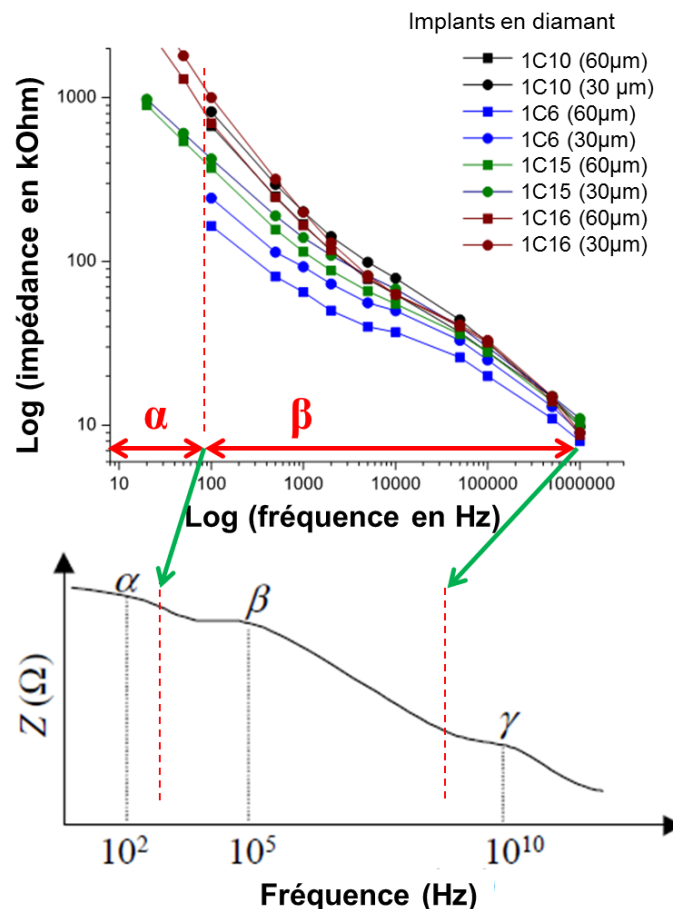
Après 2 mois, les rats sont sacrifiés, les têtes d'implants sont récupérées et les électrodes sont observées au MEB pour examiner l'état des électrodes. Les mesures d'impédances et de phase sont analysées et corrélées avec l'imagerie. L'analyse de l'ensemble des données offrira un retour sur le comportement des électrodes dans les tissus sur plusieurs semaines et participera à l'amélioration des futurs implants.

Nous verrons dans un premier temps l'allure générale des courbes d'impédance lorsque la rétine s'est recollée à l'implant (cas des électrodes en diamant) et dans un second temps, l'évolution de l'impédance de quelques cas d'implants (électrode en diamant et en platine noir) au cours du temps.

¹⁶ Optical Coherence Tomography

7.3.1 Impédances des implants en diamant stables où la rétine s'est recollée

On remarque que lorsque la rétine est au contact avec les électrodes en diamant de l'implant, celles-ci présentent une partie résistive comprise entre 40 et 100 kOhms dans la gamme de fréquence 1kHz-30kHz comparée aux mesures dans le gel ou le PBS. Cette partie donne accès à la résistivité du tissu. Ces résultats sont en accord avec les mesures de Shah et al. [142]. De plus, nous retrouvons la dispersion de l'impédance électrique α et β . Dans les plus basses fréquences, la résistance observée est la résistance de transfert de charge entre l'électrode et le tissu ou son milieu environnant. Les très fortes impédances dans cette zone peuvent s'expliquer par le fait que peu de charges sont transférées entre l'électrode et le milieu environnant. Nous sommes en effet, pour les mesures d'impédance, au potentiel d'abandon (appelé aussi potentiel "en circuit ouvert") où la probabilité d'avoir des échanges par oxydoréduction est très faible. Toutefois, il n'est pas improbable que cette résistance soit plus faible en in-vivo que dans le PBS due à la présence d'espèces oxydoréductrices présentes dans le sang et les tissus.



**Graphe 15 - Comparaison de l'allure générale des courbes d'impédance des électrodes une fois la rétine recollée à l'implant (entre S3 et S5)
- 4 séries différentes d'implant en diamant (1C10, 1C6, 1C15 et 1C16)**

Bien que les mesures d'impédances brutes fournissent déjà quelques informations sur les phénomènes qui se produisent à la surface des électrodes, elles ne peuvent cependant être interprétées que par corrélation avec les imageries afin de relier plus précisément une variation d'impédance à un événement particulier. Nous allons donc comparer le comportement des électrodes en platine noir et en diamant in-vivo au cours du temps.

7.4 Mesures et suivi in-vivo des implants

Les mesures in-vivo d'impédances seront corrélées à des imageries de fond d'œil et d'OCT mais aussi aux images MEB des implants explantés lorsque cela est possible. L'évolution de ces impédances corrélée avec ces imageries sera toutefois difficile à interpréter car chaque cas d'implantation est particulier. Cependant, nous pourrions émettre des hypothèses basées sur l'observation de la tendance générale de l'évolution des impédances. La mesure d'impédance est donc un moyen de suivre l'évolution de l'implant mais également du milieu qui l'entoure. En effet, la compréhension de ces changements en impédance in-vivo pourra nous permettre ainsi de déduire si par exemple la rétine s'est recollée à l'implant afin de décider en conséquence des manipulations à venir (poursuite ou non des mesures).

Les évolutions d'impédances sont difficiles à interpréter car très peu d'études ont été menées jusqu'à maintenant sur une durée aussi longue et sur une large plage de fréquences. En général, dans la littérature, les mesures d'impédance sont seulement relevées à la fréquence d'intérêt de 1 kHz au cours du temps, ce qui limite et nous fournit moins d'informations sur le comportement de l'électrode contrairement aux mesures réalisées sur une plus large gamme de fréquence. L'étude des impédances sur des fréquences allant de 20 Hz à 1 MHz et leur corrélation avec les imageries nous permet l'observation de manière plus précise du comportement de l'électrode. Les évolutions in-vivo de 2 implants en diamant et de 2 implants en platine noir seront décrites ci-après.

7.4.1 Analyse de 2 cas particuliers d'implant en diamant

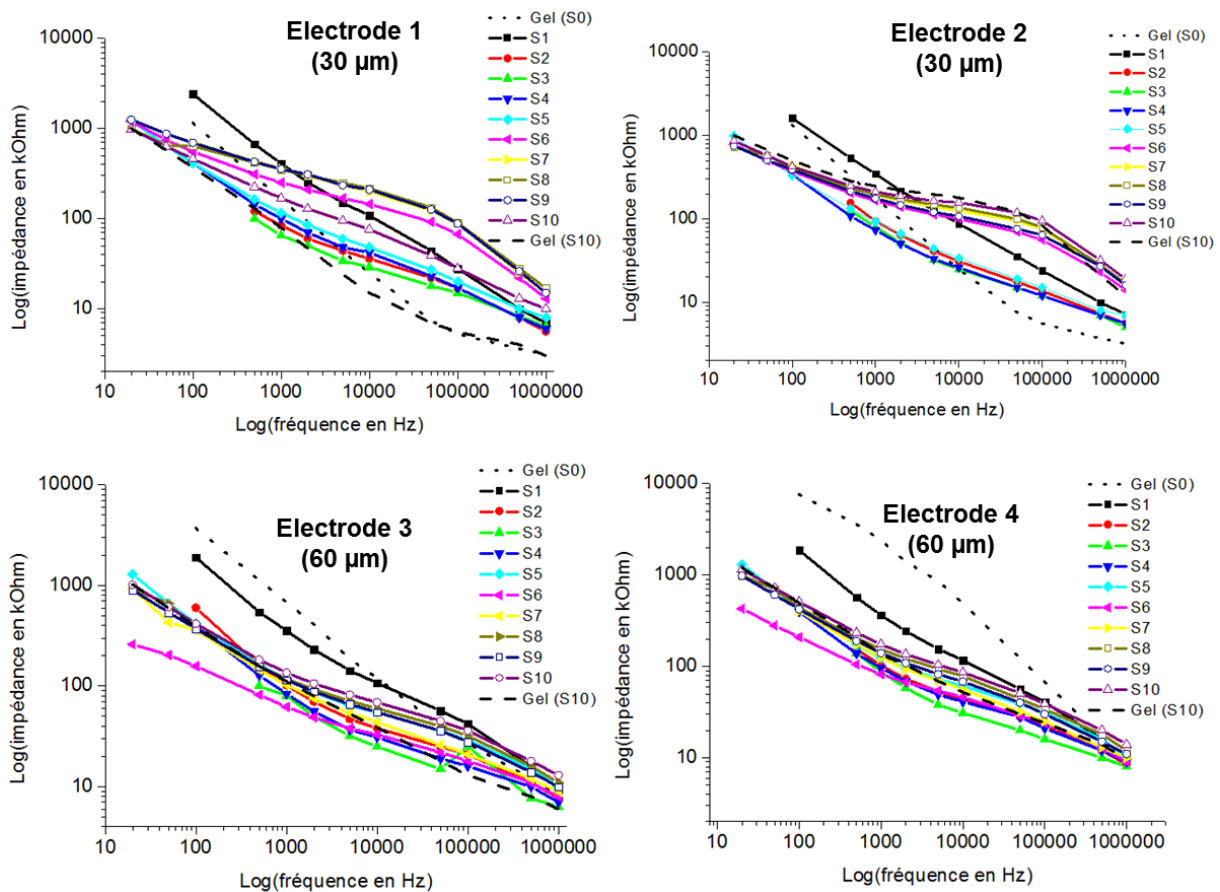
7.4.1.1 Implant diamant 1C15

Nous avons pu observer l'évolution de l'impédance d'un implant avec des électrodes diamant, le 1C15. Les impédances de cet implant ont d'abord été mesurées dans le gel de décollement de la rétine avant l'implantation (Gel (S0)) puis in-vivo pendant 10 semaines et

enfin est explanté et de nouveau mesuré dans le gel (Gel (S11)). Ces valeurs sont représentées sur le Graphe 16.

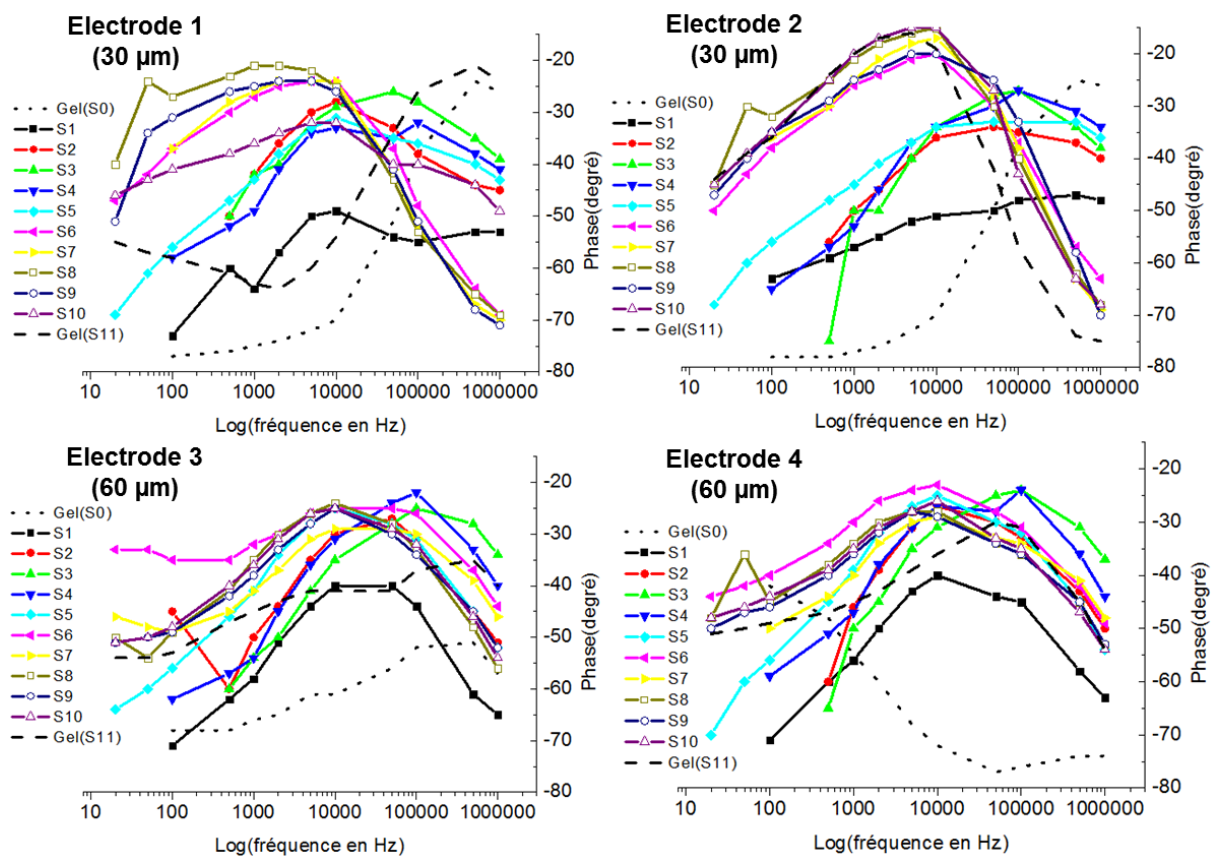
L'allure de la courbe d'impédance dans le gel de décollement avant l'implantation est différente de l'allure des courbes in-vivo. L'électrode 4 présente une impédance légèrement plus élevée lors de la première mesure dans le gel qui peut être dû à la présence d'une bulle ou d'une impureté à la surface de l'électrode.

En milieu in-vivo, l'allure des courbes change et un léger palier résistif apparaît entre 10 kHz et 100 kHz dès la première semaine d'implantation pour les électrodes et se déplace progressivement les semaines suivantes vers les basses fréquences. Nous retrouvons la dispersion de l'impédance électrique α (inférieure à 100 Hz) et β (environ entre 100 Hz à 1 MHz). Pendant les premières semaines suivant l'implantation, nous observons une fluctuation de l'impédance où nous avons une diminution générale de l'impédance des électrodes jusqu'à la 3^{ème} semaine qui peut être liée aux phénomènes post-opératoires tels que la résorption du gel au cours du temps. Nous l'observons également sur plusieurs autres implants diamant. A partir de la 3^{ème} semaine, l'impédance générale augmente jusqu'à la 7^{ème} semaine pour les petites électrodes où elle se stabilise avec un palier résistif de plus en plus marqué entre 1 kHz et 50 kHz. Tandis que dans le cas des grosses électrodes, l'impédance semble plus stable car elle augmente plus légèrement jusqu'en 10^{ème} semaine.



Graph 16 - Suivi d'impédance dans le temps de 4 électrodes de l'implant (diamant) 1C15 sur une large gamme de fréquence pendant 10 semaines in-vivo

Concernant les phases, elles sont assez fluctuantes et donc difficiles à suivre et à interpréter. A. Mercanzini et al. [143] ont introduit le Peak Resistance Frequency (PRF) ou le pic en fréquence de résistance maximale qui correspond à la fréquence à laquelle l'interface électrode-tissu est la plus résistive (phase proche de 0°). Il est utilisé pour suivre la progression de la réaction du tissu où au cours du temps, l'impédance augmente et le PRF diminue en fréquence. L'impédance à cette fréquence est selon leur modèle, une approximation proche de la résistance du tissu. Dans notre cas, le PRF nous permettra avec la corrélation des imageries, de suivre le recollement de la rétine et éventuellement la réaction du tissu si elle a lieu. On voit qu'environ les 5 premières semaines, les pics sont assez stables (à environ 100 kHz) puis se déplacent vers les basses fréquences (2 kHz pour l'électrode 1 et environ 10 kHz pour les autres électrodes) ce qui suggère un changement dans le milieu.



Graphe 17 - Suivi de phase dans le temps de 4 électrodes de l'implant (diamant) 1C15 sur une large gamme de fréquence pendant 10 semaines in-vivo

Avec les images OCT et fond d'œil (Figure 108), on peut observer l'évolution de l'implant dans l'œil. On remarque sur les images de fond d'œil qu'entre la 1^{ère} semaine et la 3^{ème} semaine, l'implant s'est déplacé vers le bas en prenant comme point de repère le gros vaisseau et sur les images OCT que l'implant n'est pas placé de manière horizontale mais incliné d'environ 45°. Cette position peut être due à une contrainte mécanique liée à l'implant ou à la chirurgie. On l'observe également sur d'autres implants, ce qui ne signifie pas que la rétine ne puisse pas se recoller. Des optimisations ont été réalisées pour les futures chirurgies afin d'améliorer la position de l'implant et la rendre plus reproductible.

Il est possible d'estimer à partir de quelle semaine la rétine se recolle à l'implant. En effet, on remarque qu'elle se recolle petit à petit à l'implant en diamant entre la 2^{ème} et la 3^{ème} semaine et qu'elle s'est complètement recollée à l'implant entre la 4^{ème} et la 5^{ème} semaine.

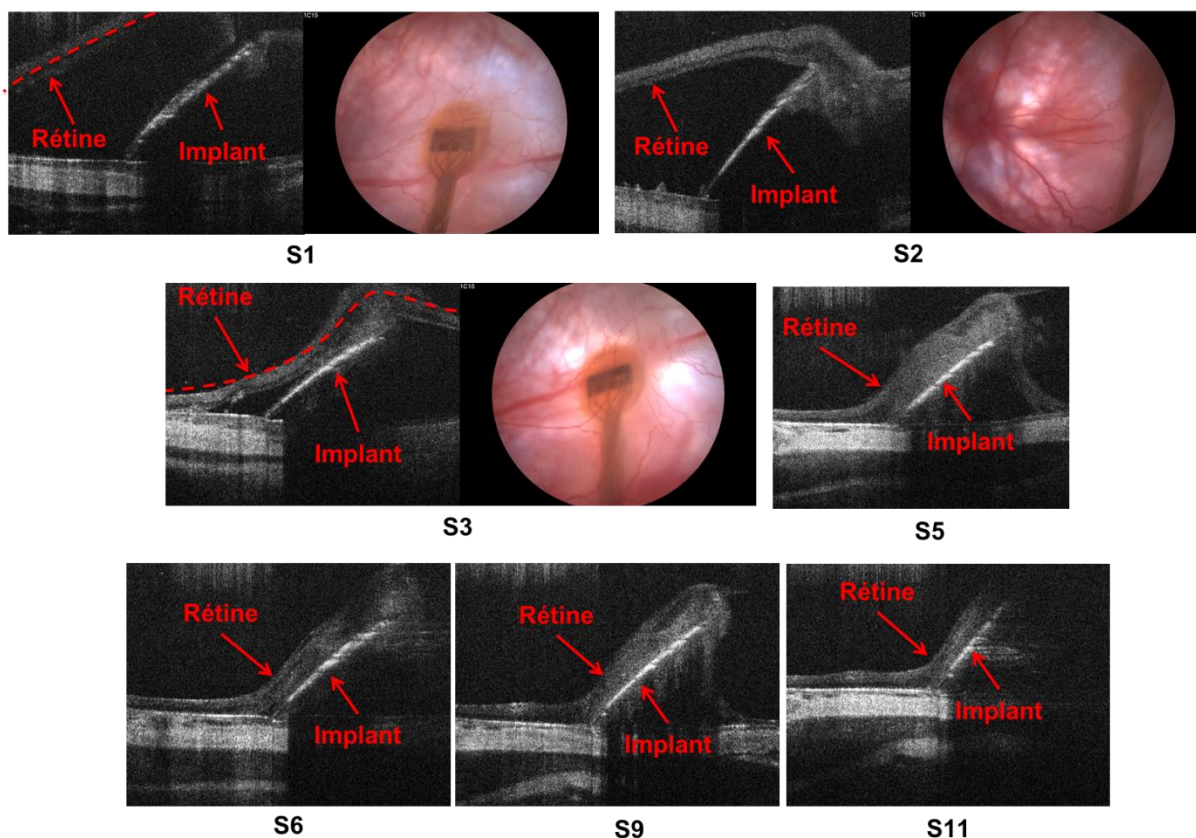
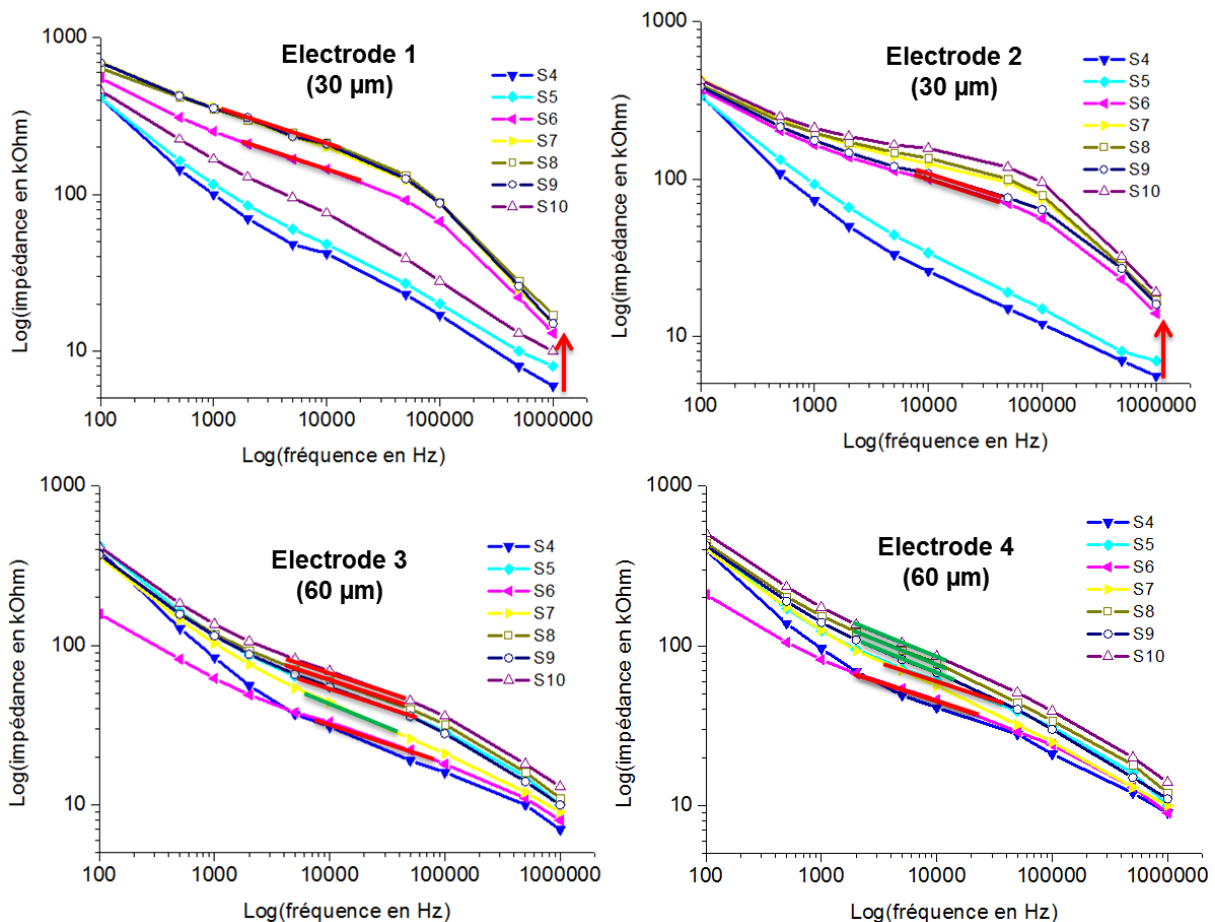


Figure 108 - Images d'OCT et de fond d'œil de l'implant (diamant) 1C15 sur 11 semaines

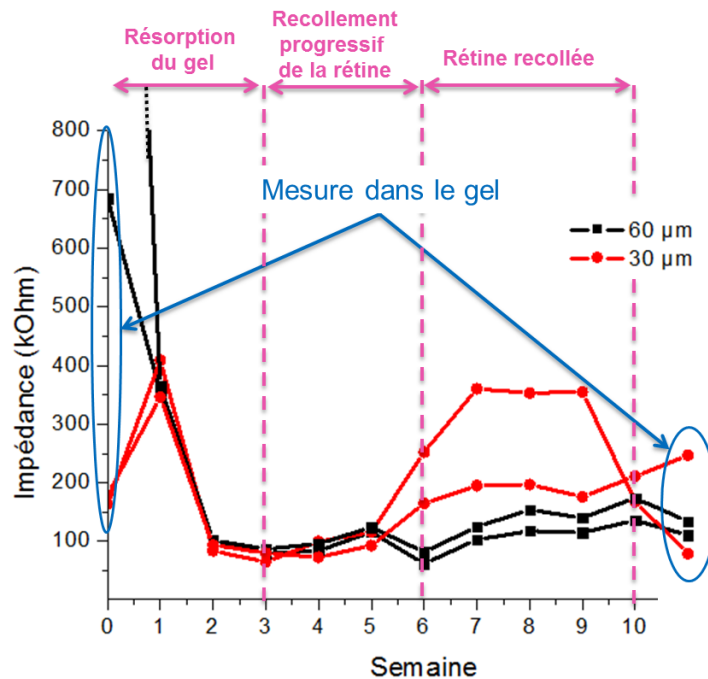
Ce phénomène de recollement peut être corrélé avec l'allure des courbes de mesures in-vivo observée avec les graphes d'impédances (Graphe 16) et de phase (Graphe 17). Lorsque la rétine est en contact avec la rétine (entre S4 et S5), on observe un changement notable surtout avec l'électrode 2 où l'allure de la courbe d'impédance évolue en une courbe d'impédance présentant un palier de plus en plus résistif entre 1 kHz et 50 kHz que nous pouvons attribuer au changement de milieu de plus en plus résistif. Tandis que les phases à 1 kHz deviennent également plus élevées (tendent vers 0°), suggérant un comportement plus résistif de l'électrode. L'augmentation de l'impédance à partir de la 4^{ème} semaine et le déplacement des PRF à partir de la 5^{ème} semaine vers les basses fréquences se corrélient avec le recollement progressif de la rétine sur l'implant. La différence d'évolution de l'impédance entre les électrodes, notamment entre les plus petites, qui peut être causée par le recollement de la rétine qui est progressif et n'est pas homogène sur tout l'implant. Ces évolutions sont cohérentes puisque la rétine étant un tissu plus résistif que le milieu [144] (p.148, §7.3.1), l'impédance mesurée sera plus élevée lorsque la rétine est en contact avec l'électrode. Nous avons effectué des zooms à partir de la 4^{ème} à la 10^{ème} semaine sur les paliers d'impédance représentés sur le Graphe 18 où nous pouvons voir que les **pentés des paliers** (droites rouges)

sont identiques pour les électrodes en 6^{ème} semaine, ce qui indiquerait un même milieu. Bien que les images OCT montrent le recollement de la rétine sur l'implant, les courbes d'impédances indiquent que **la rétine n'est en contact avec toutes les électrodes qu'à partir de la 6^{ème} semaine dans le cas de cet implant diamant**. La pente des paliers reste identique les semaines suivantes pour l'électrode 1 et 3 mais les impédances se déplacent vers les basses fréquences. Tandis que pour l'électrode 2, la pente du palier d'impédance change jusqu'en 10^{ème} semaine et celle de l'électrode 4 change jusqu'à la 7^{ème} semaine et reste ensuite identique jusqu'à l'explantation. L'augmentation des paliers en impédance et leur déplacement vers les basses fréquences ont été observés pour des phénomènes d'encapsulation où le palier représente la résistance du tissu [143]. Ce qu'on observerait ici serait finalement similaire comme si au lieu d'avoir un phénomène d'encapsulation, nous aurions un recollement de la rétine.



Graph 18 – Zoom sur les paliers d'impédance de 4 électrodes de l'implant (diamant) 1C15 sur une large gamme de fréquence pendant 10 semaines in-vivo

En ne gardant que la fréquence à 1 kHz du Graphe 17, il aurait été difficile et moins précis d'attribuer l'évolution de l'impédance à un phénomène particulier. Tandis que l'observation sur une large plage de fréquence permet d'obtenir plus d'informations qui serviront à mieux comprendre l'évolution des impédances à 1 kHz (Graphe 19). A 1 kHz, l'impédance d'une électrode de 60 μm est entre 100 et 170 kHz une fois la rétine recollée tandis que pour une électrode de 30 μm , elle est entre 150 et 350 kHz.



Graphe 19 - Suivi d'impédance dans le temps de l'implant (diamant) 1C15 à 1 kHz

Après 10 semaines d'implantation, l'implant est explanté et de nouveau mesuré dans le gel. Sur le Graphe 16, on voit que les électrodes 1, 3 et 4 retrouvent une allure de courbe d'impédance différente de celle avant l'implantation tandis que celle de l'électrode 2 présente toujours un palier résistif. On peut supposer que lors de l'explantation, il restait du tissu sur l'électrode lorsque nous avons mesuré l'implant dans le gel, ce qui expliquerait l'allure de cette courbe pour l'électrode 2.

La tête de l'implant a ensuite été coupée puis nettoyée afin d'être observée au MEB et constater l'état des électrodes après 11 semaines d'implantation (Figure 109 et Figure 110). On remarque que la masse commence à se détacher (Figure 109 – A) et sur les autres images, que les électrodes se dégradent. On peut voir que le diamant se fissure sur la Figure 109 – E et qu'il s'érode au centre de l'électrode (Figure 109 – B et C et Figure 110 - A) et sur l'anneau central de l'électrode (Figure 109 – D et Figure 110). On observe sur les quelques zones où le

diamant s'est localement délaminé, une couche sous-jacente qui peut être soit le métal, soit le polyimide. D'après la Figure 109 – C, nous pouvons supposer que cette couche est du polyimide due à l'effet de charge visible dans cette zone. Cette altération du diamant pourrait expliquer le fait qu'on ne retrouve pas exactement la même allure des courbes dans le gel avant et après l'explantation pour les électrodes. Il reste néanmoins difficile de se prononcer sur le moment où la délamination locale du diamant survient. Elle peut arriver avant (lors de la chirurgie), pendant (in-vivo) et/ou après l'explantation où parfois du tissu peut encapsuler la tête d'implant.

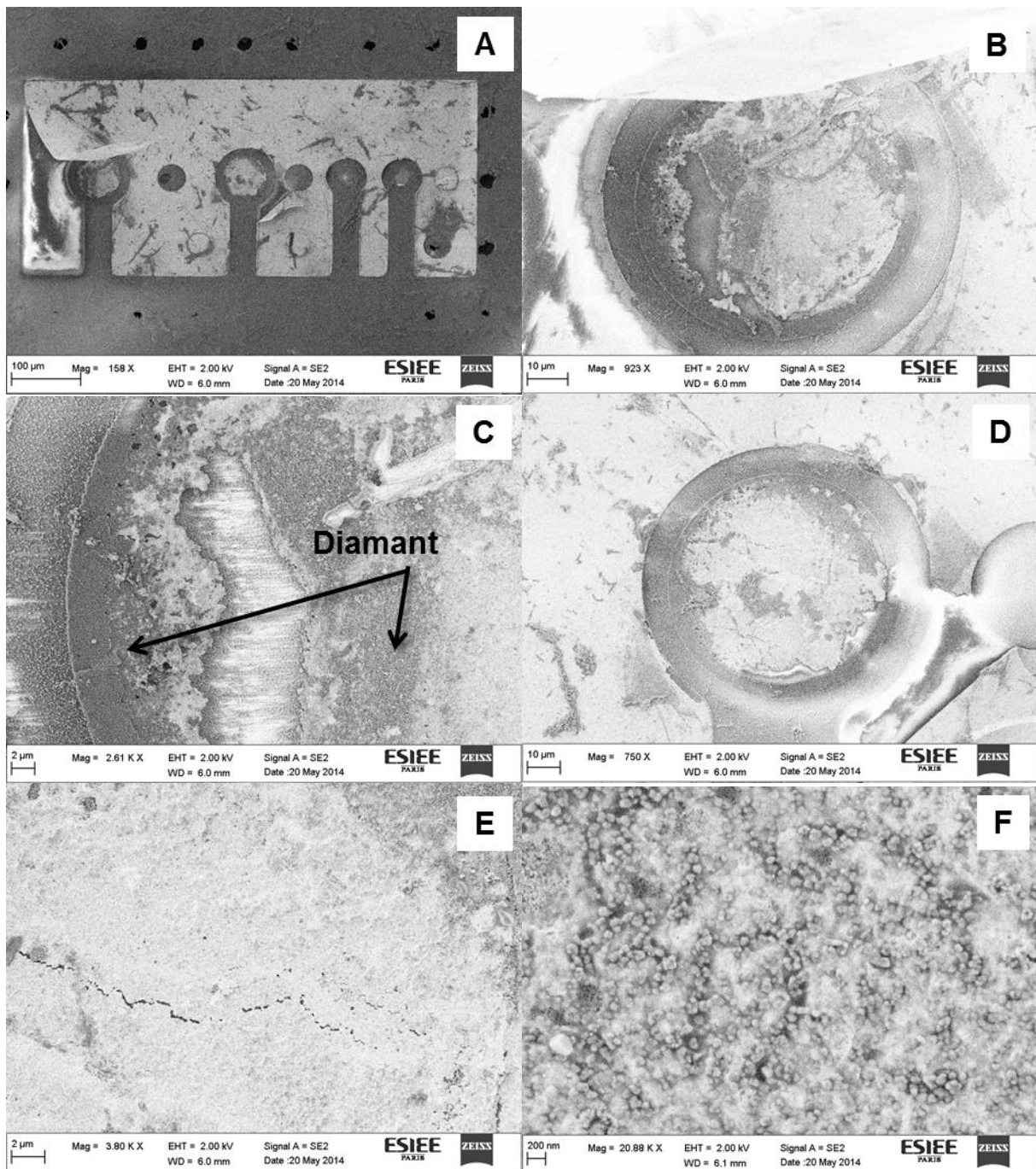


Figure 109 - Vues MEB de l'implant 1C15 (diamant) : 4 électrodes avec la grille de masse (A), électrode 3 de 60 μm (B et C), électrode 4 de 60 μm (D à F) avec un zoom sur sa surface qui présente une fissure (E) et un zoom sur le diamant (D)

Nous pouvons noter que sur la Figure 110, le polyimide et le diamant se différencient par leur structure morphologique où le diamant possède une structure un peu poreuse et granuleuse composée de grain de taille nanométrique tandis que le polyimide a une structure granuleuse. La surface du polyimide est plus rugueuse que celles des implants en platine noir (que nous verrons au 7.4.2.1) du fait du procédé de libération des implants qui est différent.

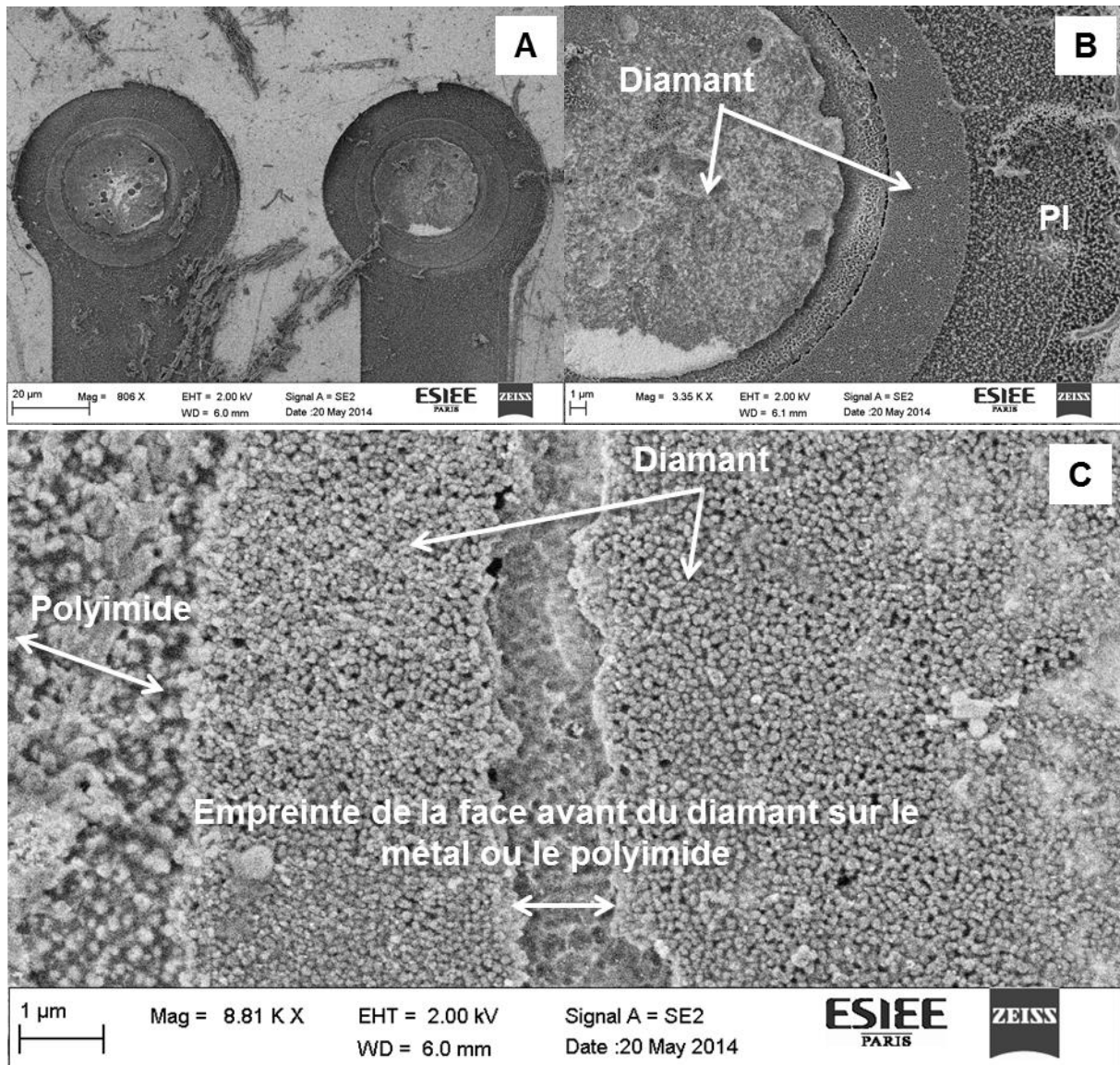


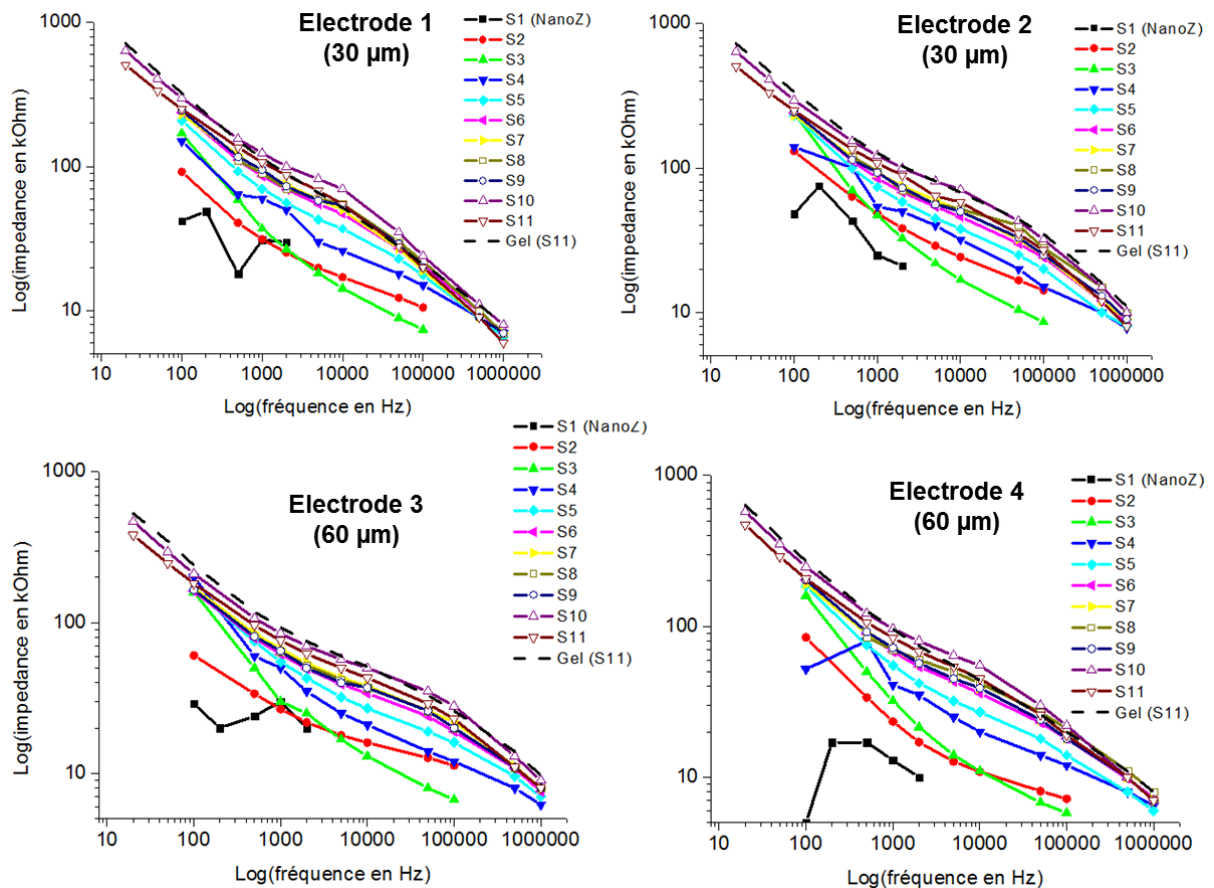
Figure 110 - Vues MEB de l'implant 1C15 (diamant) d'électrodes de 30 µm (A), zoom sur l'électrode 2 de 30 µm (B) et zoom sur une partie de l'électrode (C)

Nous allons observer un autre implant diamant afin de vérifier la reproductibilité de l'évolution de l'impédance avec le recollement de la rétine.

7.4.1.2 Implant diamant 1C6

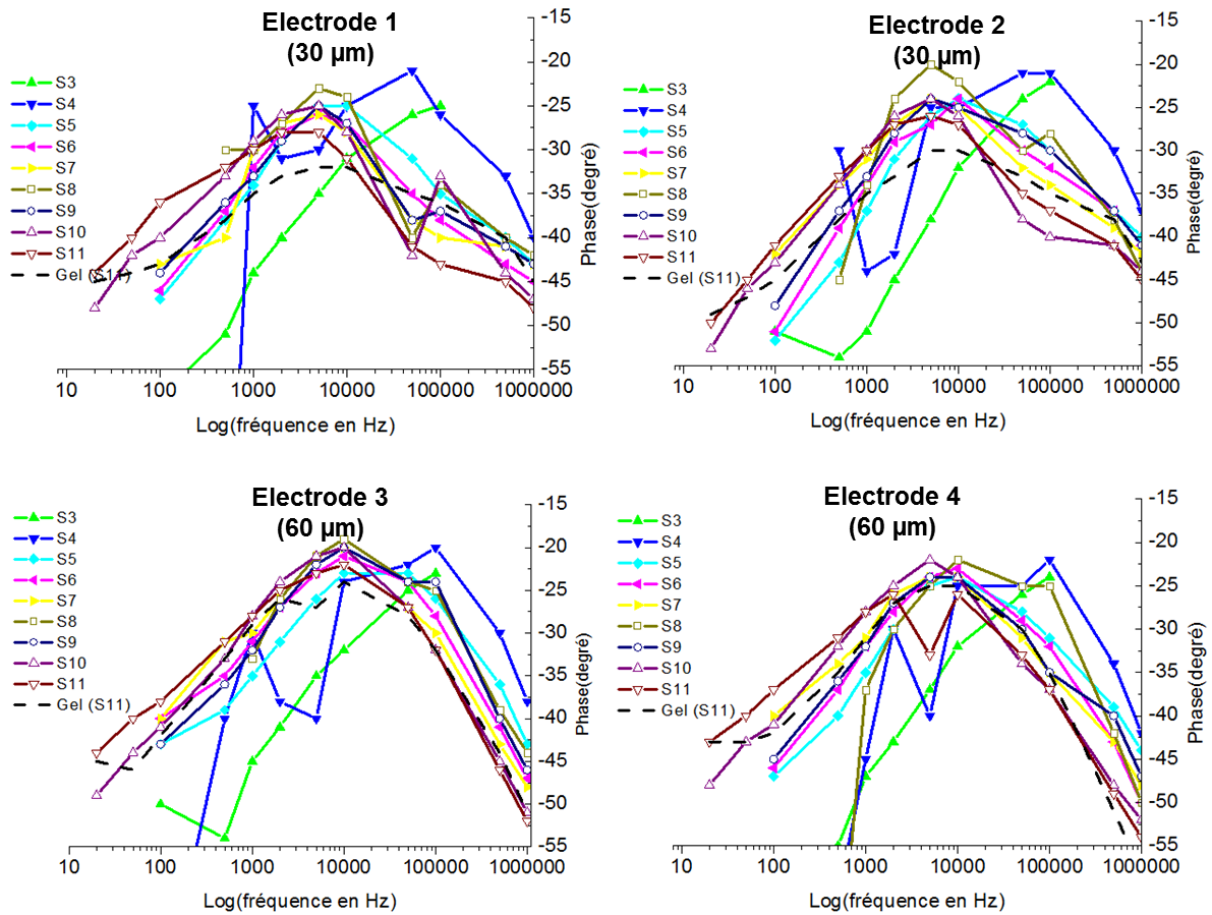
En étudiant encore un autre implant diamant, le 1C6, on peut déduire des mesures in-vivo de 1C15 (et d'autres implants) que la dissipation du gel nécessaire pour le décollement de la rétine fait diminuer en général l'impédance. En effet, avec l'implant 1C6, le gel semble s'être dissipé rapidement dès la 1^{ère} semaine car nous observons une augmentation progressive de l'impédance (Graphe 20) jusqu'à l'explantation. Les premières mesures d'impédance ont été effectuées pendant la première semaine d'implantation (S1) avec le NanoZ de MCS et elles ne

semblent pas fiables car elles sont trop fluctuantes et sont restreintes sur une petite gamme de fréquence (entre 100 Hz et 2 kHz). Les valeurs des semaines suivantes ont été réalisées avec un analyseur de fréquence qui nous permet de mesurer sur une plus large plage de fréquence. Ici aussi, nous retrouvons la dispersion de l'impédance électrique α (inférieure à 100 Hz) et β (environ entre 100 Hz à 1 MHz). Malheureusement nous n'avons pas assez étendu les mesures d'impédance dans les hautes fréquences la 2^{ème} et 3^{ème} semaine (S2 et S3) pour nous permettre de voir le palier de résistance.



Graphe 20 - Suivi d'impédance dans le temps de 4 électrodes de l'implant 1C6 sur une large gamme de fréquence pendant 11 semaines

Concernant les phases (Graphe 21), en faisant abstraction des 4 premières semaines (phases instables), les PRF sont assez stables car ils restent entre 5 kHz et 10 kHz pour les électrodes ce qui suggère que ces derniers seraient en contact avec le même tissu.



Graph 21 - Suivi des phases dans le temps de 4 électrodes de l'implant 1C6 (diamant) sur une large gamme de fréquence pendant 11 semaines

Ces mesures d'impédance peuvent être corrélées avec les images OCT (Figure 111) où nous voyons que nous avons un bon recollement de la rétine depuis la 1^{ère} semaine jusqu'à l'explantation. Les images de fond d'œil montrent que la position de l'implant a légèrement bougé entre la 1^{ère} semaine et la 9^{ème} semaine (déplacement de l'implant vers le bas en prenant comme repère le gros vaisseau horizontal). L'évolution de cet implant (1C6) est similaire à celle de l'implant diamant 1C15 à partir du moment où la rétine se recolle à l'implant, nous avons une augmentation de l'impédance ce qui est en accord avec la littérature [142]. Les PRF restent stables ce qui signifie que la rétine est en contact avec la rétine sans réaction du tissu selon les travaux de A. Mercanzini et al. [143].

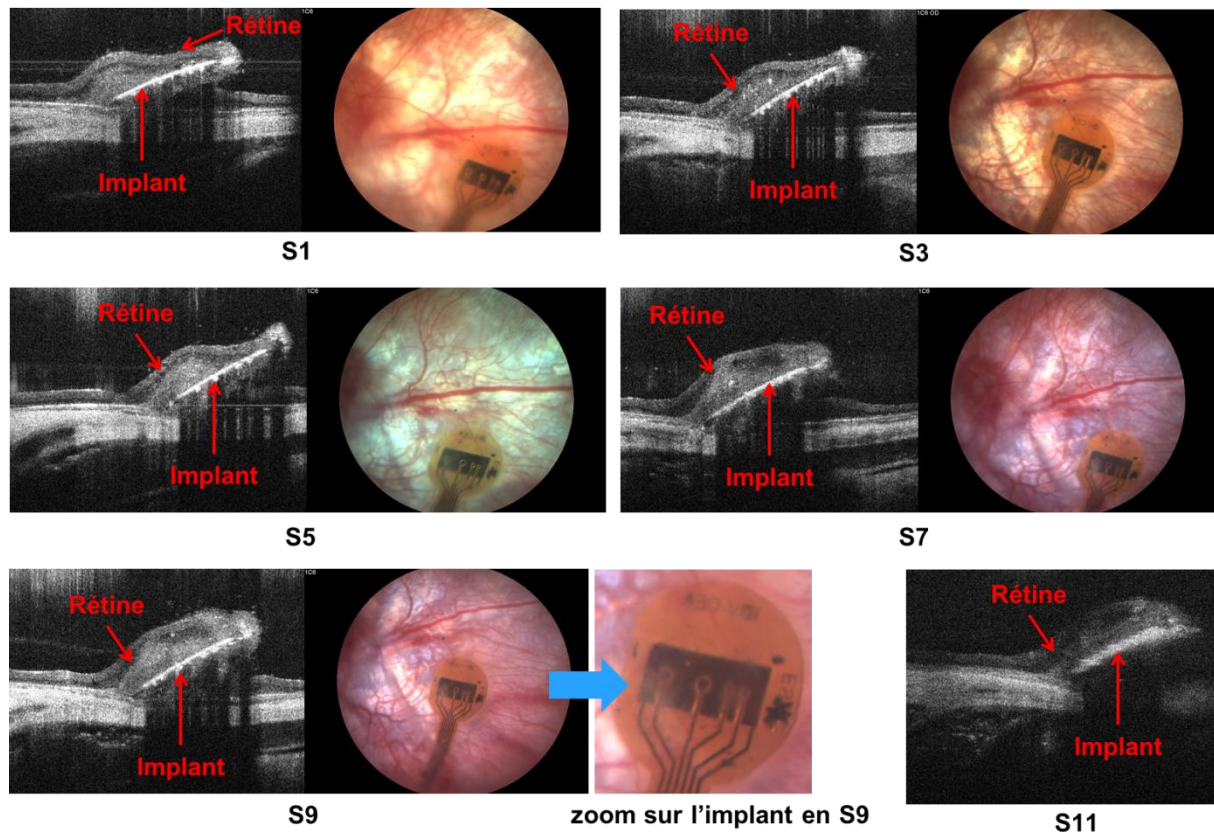
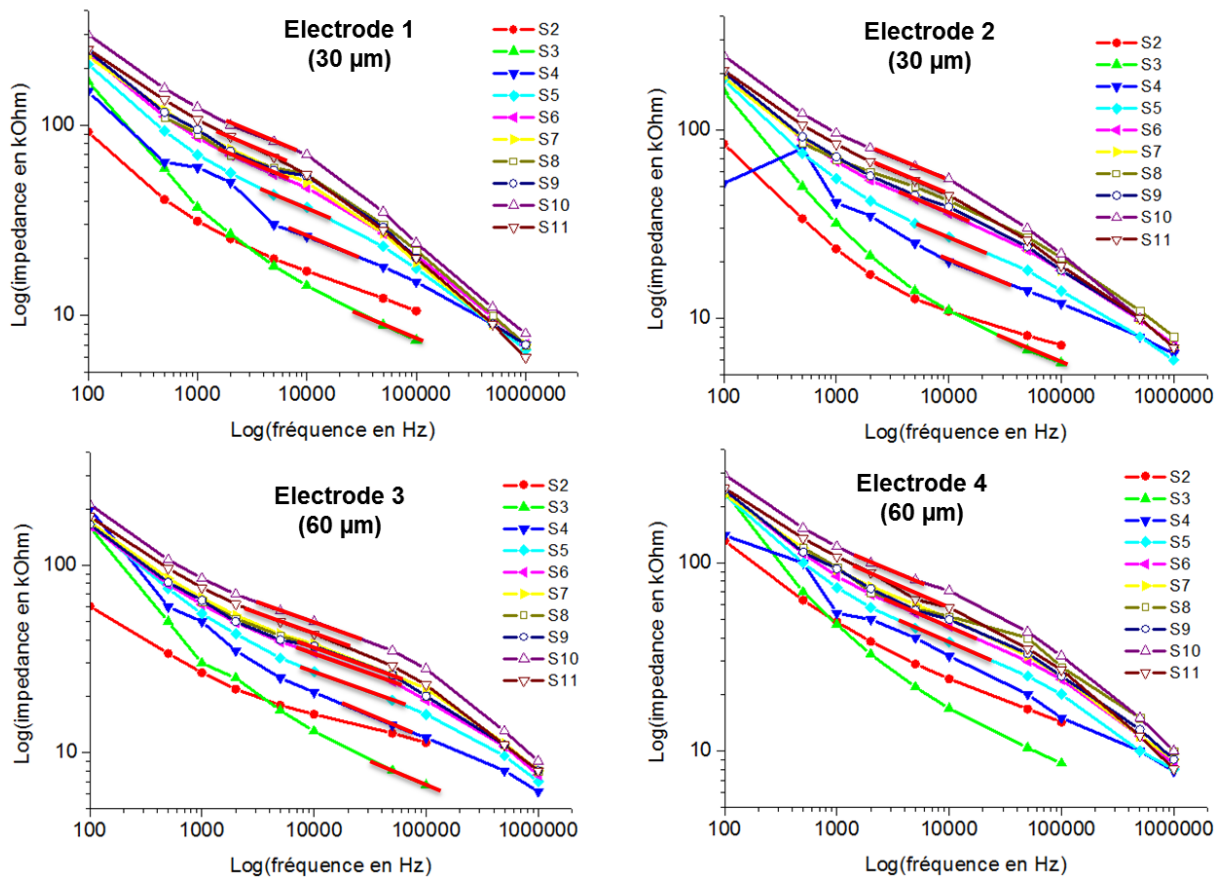


Figure 111 - Images d'OCT et de fond d'œil de l'implant 1C6 sur 11 semaines d'implantation

En effectuant un zoom sur les paliers d'impédances des électrodes (Graphe 22), on observe le même phénomène qu'avec l'implant diamant 1C15. On aperçoit l'apparition des paliers de résistance à partir de la 4^{ème} semaine avec une pente identique aux autres pentes des semaines suivantes (donc même milieu) et que les paliers se déplacent vers les basses fréquences. Comme pour l'implant précédemment étudié, ces paliers d'impédances sont compris entre 1 kHz et 50 kHz. Bien que les images OCT montrent un recollement de la rétine à partir de la 1^{ère} semaine, l'allure des courbes d'impédances suggère que la rétine serait en contact avec toutes les électrodes seulement à partir de la 4^{ème} semaine. Mais étant donné que la plage de fréquence des mesures des premières semaines n'était pas assez étendue, il se pourrait que la rétine soit en contact avec les électrodes à partir dès la 1^{ère} semaine comme on le voit sur les images OCT.



Graph 22 – Zoom sur les paliers d’impédances de 4 électrodes de l’implant (diamant) 1C6 sur une large gamme de fréquence pendant 11 semaines in-vivo

Après l’explantation et l’analyse au MEB de la tête de l’implant, on peut avancer l’hypothèse que plus vite la rétine se recolle à l’implant, moins il y a de dégradation de l’électrode contrairement à l’implant 1C15. Sur le zoom de la dernière image de fond d’œil à la 9^{ème} semaine (Figure 111), l’implant semble intact. Sur les images MEB (Figure 112), les électrodes en diamant tiennent encore sur l’implant mais la surface présente un peu de porosité (Figure 112 (D, E)) et la masse semble boursouflée (probablement dû au vide du MEB qui fait travailler le polyimide). On voit sur l’électrode 1 (Figure 112 - B) que malgré le nettoyage de l’électrode, il reste du tissu (de nature indéterminée) sur celle-ci, ce qui expliquerait une impédance plus élevée comparée à l’électrode 2. Cela démontre bien que les électrodes sont fonctionnelles et capables de mesurer l’impédance des tissus.

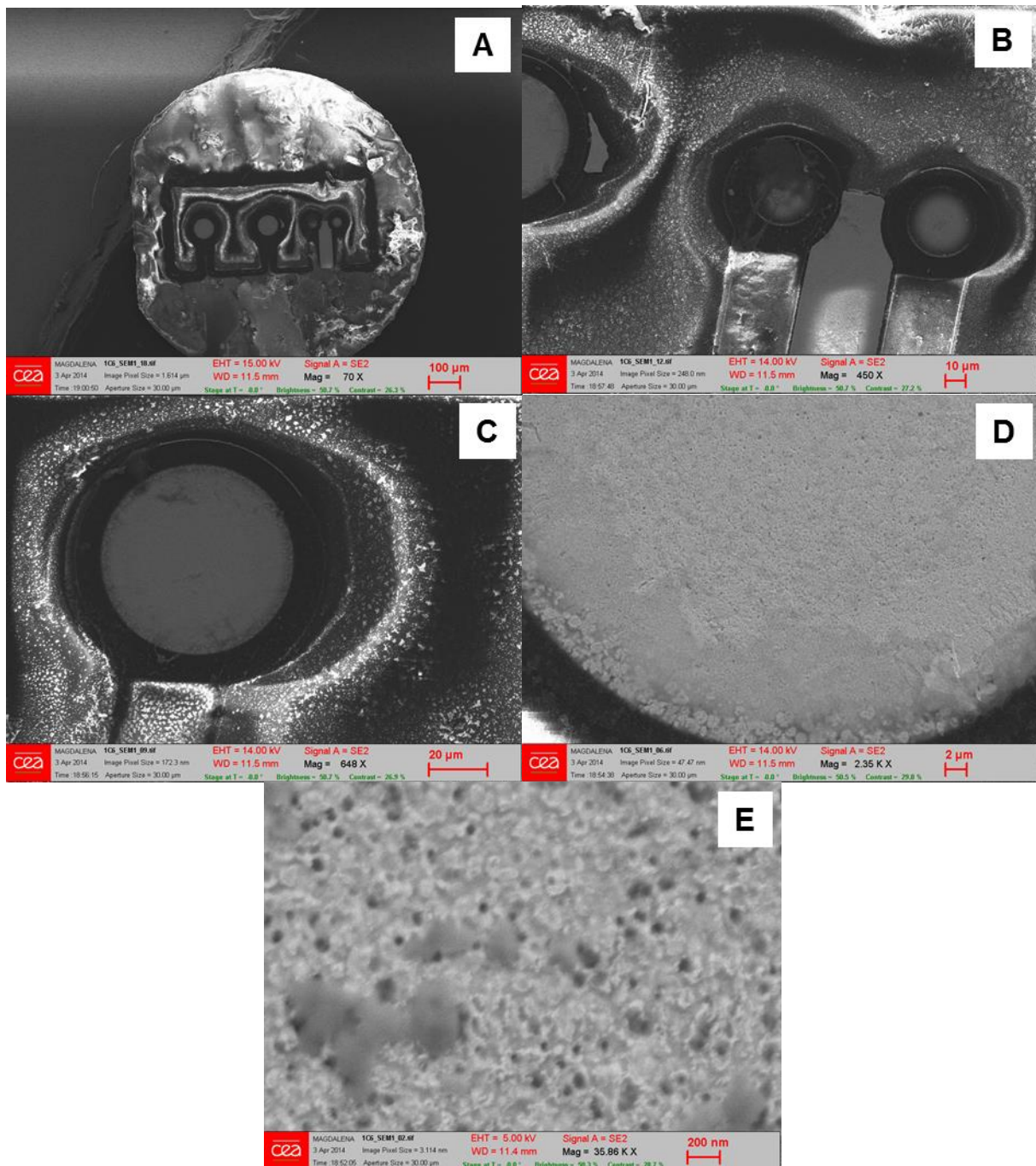


Figure 112 - Vues MEB de l'implant 1C6 (diamant): tête d'implant (A), zoom sur deux électrodes de 30 µm (B) avec l'électrode 1 à gauche et 2 à droite, zoom sur une électrode de 60 µm, zoom sur la surface de l'électrode de 60 µm (C, D)

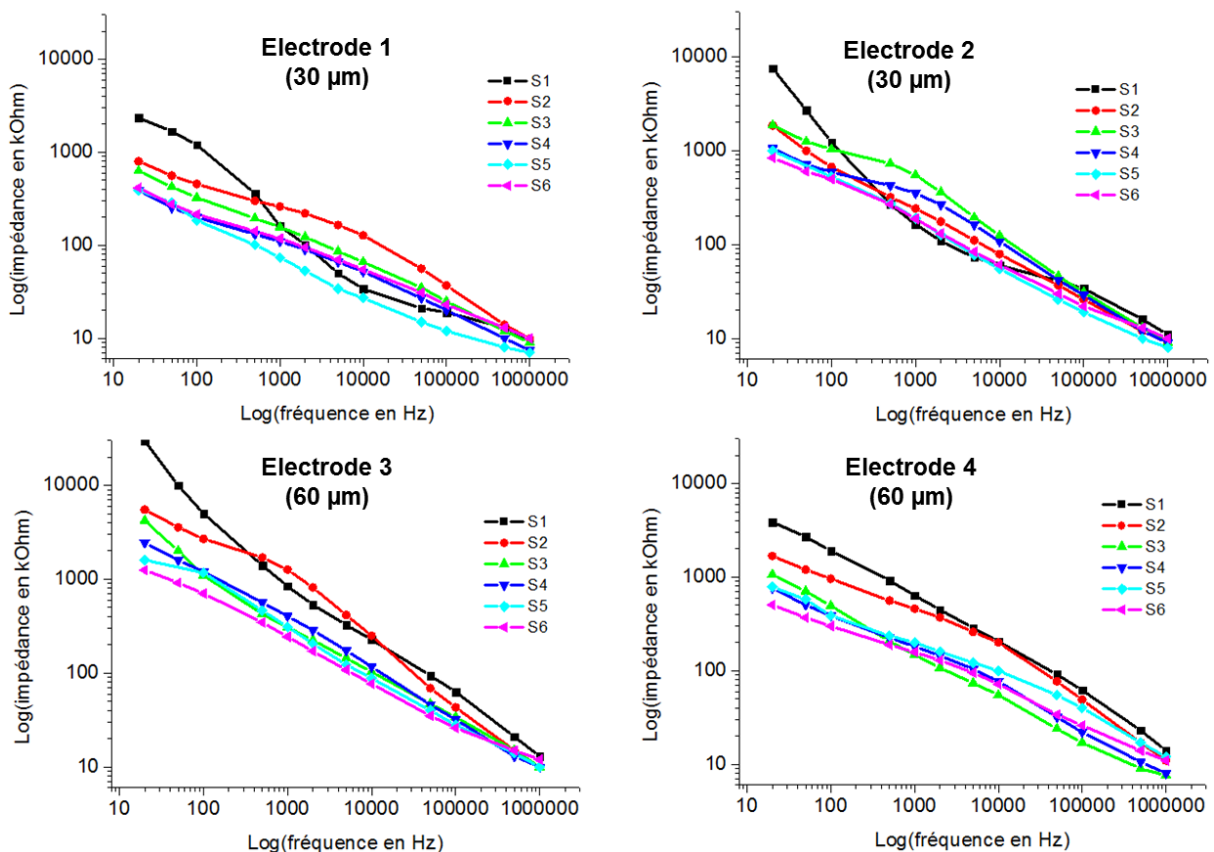
Nous verrons dans la prochaine partie l'évolution de l'impédance in-vivo des électrodes en platine noir en contact avec la rétine.

7.4.2 Analyse de 2 cas particuliers d'implant en platine noir

Le protocole de mesures d'impédances de ces premiers implants rétinéens n'avait pas encore été établi, c'est pourquoi il n'y a pas eu de mesures réalisées dans le gel.

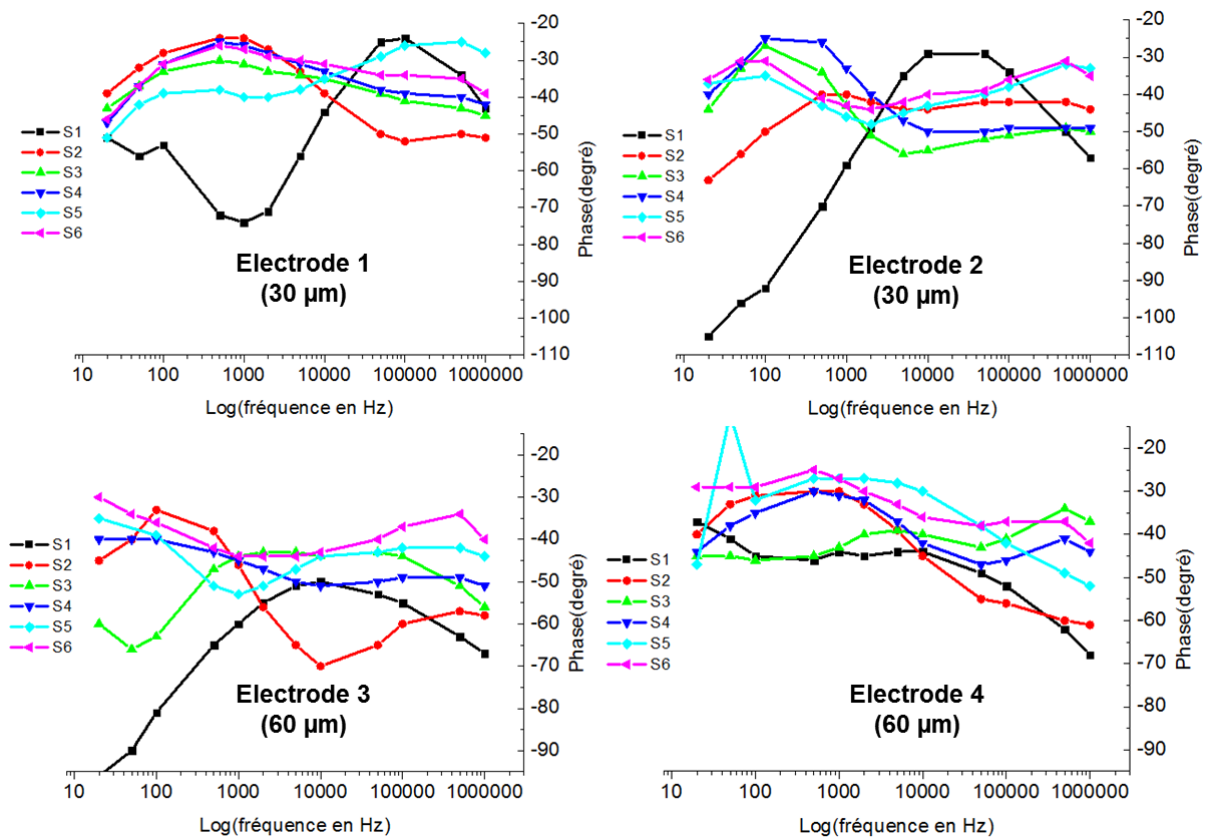
7.4.2.1 Implant planaire platine noir W38-2

Avec un implant en platine noir, le W38-2, l'évolution des courbes en impédance (Graphe 23) et en phase (Graphe 24) sont plus compliquées à interpréter comparées à celles des implants en diamant car leur fluctuation dans le temps est plus difficile à corrélérer avec les images OCT et fond d'œil. En effet, on observe différents comportements en impédance pour les 4 électrodes mais dans l'ensemble une diminution générale d'impédance pour les électrodes 3 et 4 bien que les images OCT montrent que la rétine est recollée à l'implant depuis la 1^{ère} semaine jusqu'à l'explantation. Nous avons également l'apparition de palier de résistance entre 5 kHz et 100 kHz (un peu plus large que pour les implants diamant) qui suggère que la rétine s'est recollée à l'implant dès la 1^{ère} semaine pour l'électrode 1 et 2 puis une augmentation importante de ce palier qui se déplace vers les basses fréquences (entre 100 Hz et 5 kHz) les semaines suivantes.



Graphe 23 - Suivi d'impédance dans le temps de 4 électrodes de l'implant W38-2 (platine noir) sur une large gamme de fréquence pendant 6 semaines

Concernant les phases, les PRF des électrodes 1, 2 et 4 à la 1^{ère} semaine d'implantation sont respectivement à 100 kHz, 30 kHz et 10 kHz puis se déplacent les semaines suivantes à 500 Hz, entre 100 et 300 Hz, et entre 1 kHz. Pour l'électrode 3, les valeurs sont trop fluctuantes pour pouvoir conclure. L'évolution des phases suppose que la rétine est en contact avec l'implant à partir de la 2^{ème} semaine.



Graph 24 - Suivi des phases dans le temps de 4 électrodes de l'implant W38-2 (platine noir) sur une large gamme de fréquence pendant 6 semaines

Les images de fond d'œil montrent que la position de l'implant est stable pendant les trois premières semaines puis il semble qu'à partir de la 4^{ème} semaine, la position de l'implant change dans l'œil en prenant comme repère le gros vaisseau sanguin. Par rapport à ce dernier, l'implant s'est déplacé légèrement vers le haut en 5^{ème} semaine et de manière importante vers le bas en 6^{ème} semaine. Il est possible que ces fluctuations d'impédance soient liées au mouvement de l'implant dans l'œil mais cela reste à confirmer avec d'autres implants. La baisse générale de l'impédance pour les électrodes 3 et 4 peut être due à la résorption de sang engendré lors de la chirurgie où sur les images de fond d'œil, le sang présent au niveau du gros vaisseau sanguin à la 1^{ère} semaine s'estompe au fur et à mesure jusqu'à la 6^{ème} semaine.

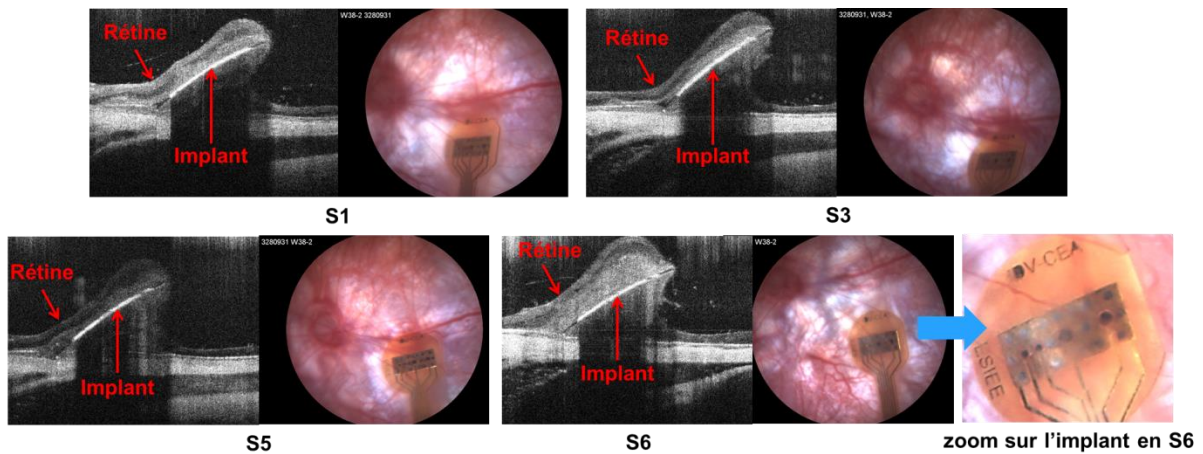


Figure 113 - Images OCT et fond d'œil de l'implant W38-2 (platine noir) de la 1^{ère}, 3^{ème}, 5^{ème} et 6^{ème} semaine d'implantation

Après la 6^{ème} semaine, le rat est décédé (de cause indéterminée) et l'implant est explanté de l'œil pour être observé au microscope optique (MO) et au MEB afin de constater l'état des électrodes (Figure 114). Sur l'image au MO, on voit que la grille de masse n'est pas dégradée mais qu'il y a des morceaux de platine noir qui se délaminent (flèches) aussi bien sur les grosses électrodes que les petites. Cette mauvaise adhésion du platine noir peut être liée à la manipulation de l'implant (explantation puis rinçage des implants dans l'EDI) puisqu'on peut voir sur le zoom de la photo du fond d'œil (Figure 113) que les électrodes semblent encore recouvertes de platine noir. Cependant, la résolution des images de fond d'œil n'est pas assez bonne pour bien observer l'état des électrodes et cela ne signifie pas que le platine noir ne se délamine pas également in-vivo. En effet, l'implant serait intercalé entre deux couches de cellules qui limiterait une délamination du platine noir ce qui ne lui empêche pas d'être soumis à des forces de friction dû au mouvement de l'implant dans l'œil. Comme on peut le voir sur les photographies MEB, le platine noir laisse apparaître la couche métallique sous-jacente. D'après le Graphe 23, le platine noir se serait délaminé in-vivo car nous observons une augmentation importante de l'impédance pour les électrodes 1 et 2 entre la 1^{ère} et la 2^{ème} semaine : le palier d'impédance compris entre 20 et 50 kOhm et présent entre 5 kHz et 100 kHz à la 1^{ère} semaine a augmenté (palier avec une impédance comprise entre 300 kOhm et 1 MOhm) et s'est déplacé vers les basses fréquences (entre 20 Hz et 1 kHz) en 2^{ème} semaine. De plus, l'altération des électrodes pourrait expliquer le déplacement important des PRF après la 2^{ème} semaine.

Le platine noir étant très fragile, nous allons voir dans la prochaine partie que l'intérêt d'utiliser des structures tridimensionnelles améliorera la tenue des électrodes.

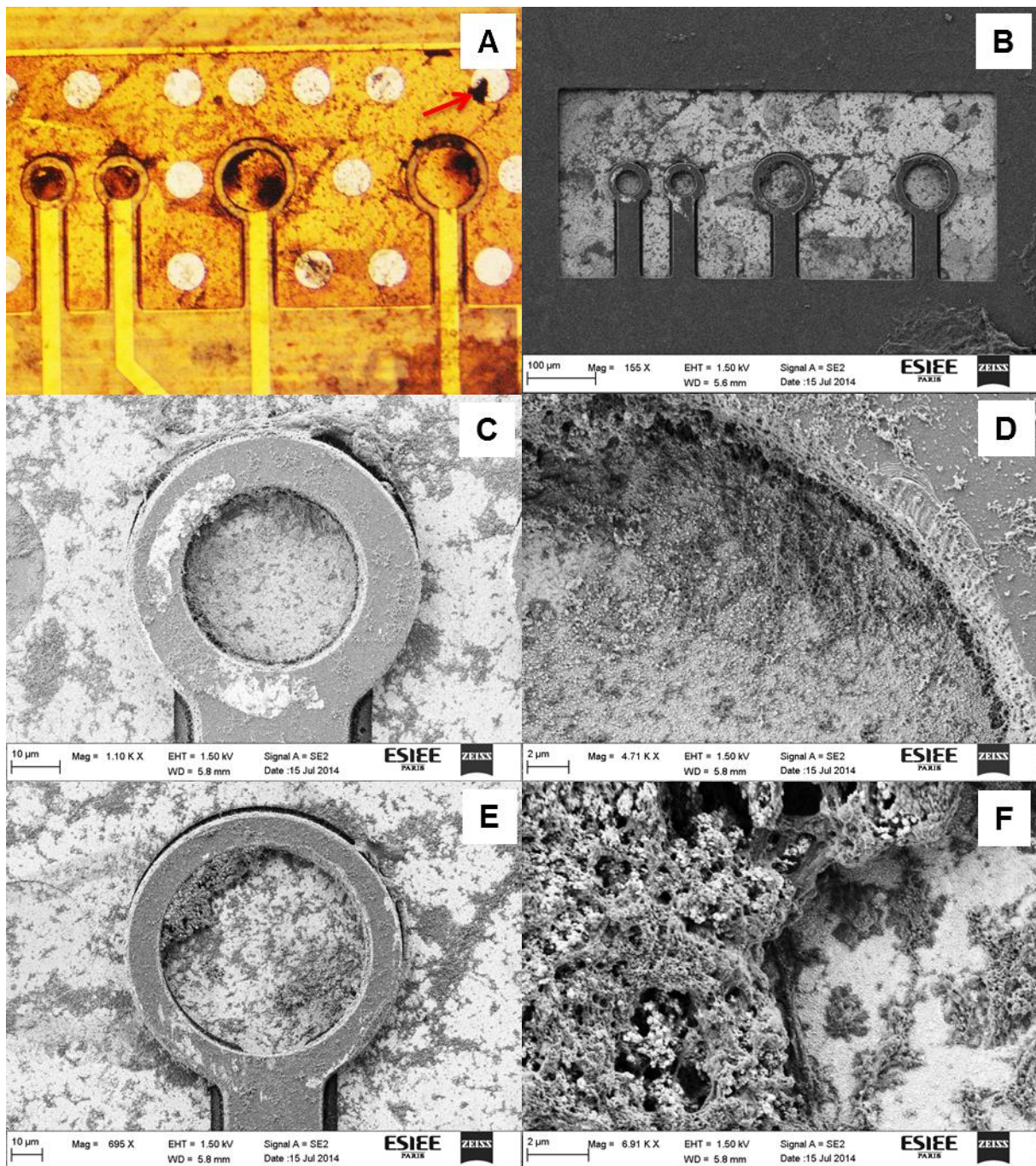
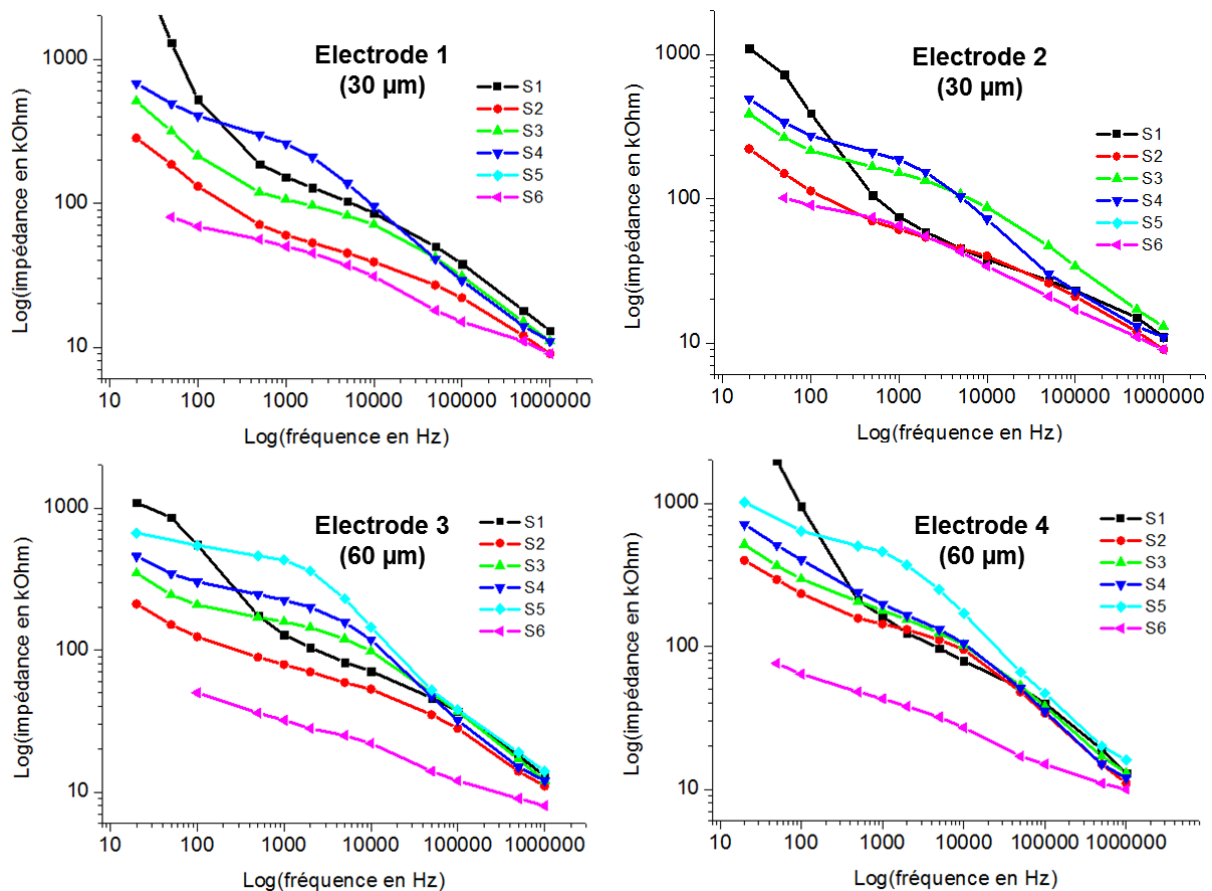


Figure 114 - Images de l'implant W38-2 (électrodes en platine noir) explanté après 6 semaines : vues au MO (A) et MEB (B à F) des 4 électrodes avec leur masse (A et B), d'une petite électrode (C et D) et d'une grosse électrode (E et F) à différents zoom

7.4.2.2 Implant 3D en platine noir (2-3D-4)

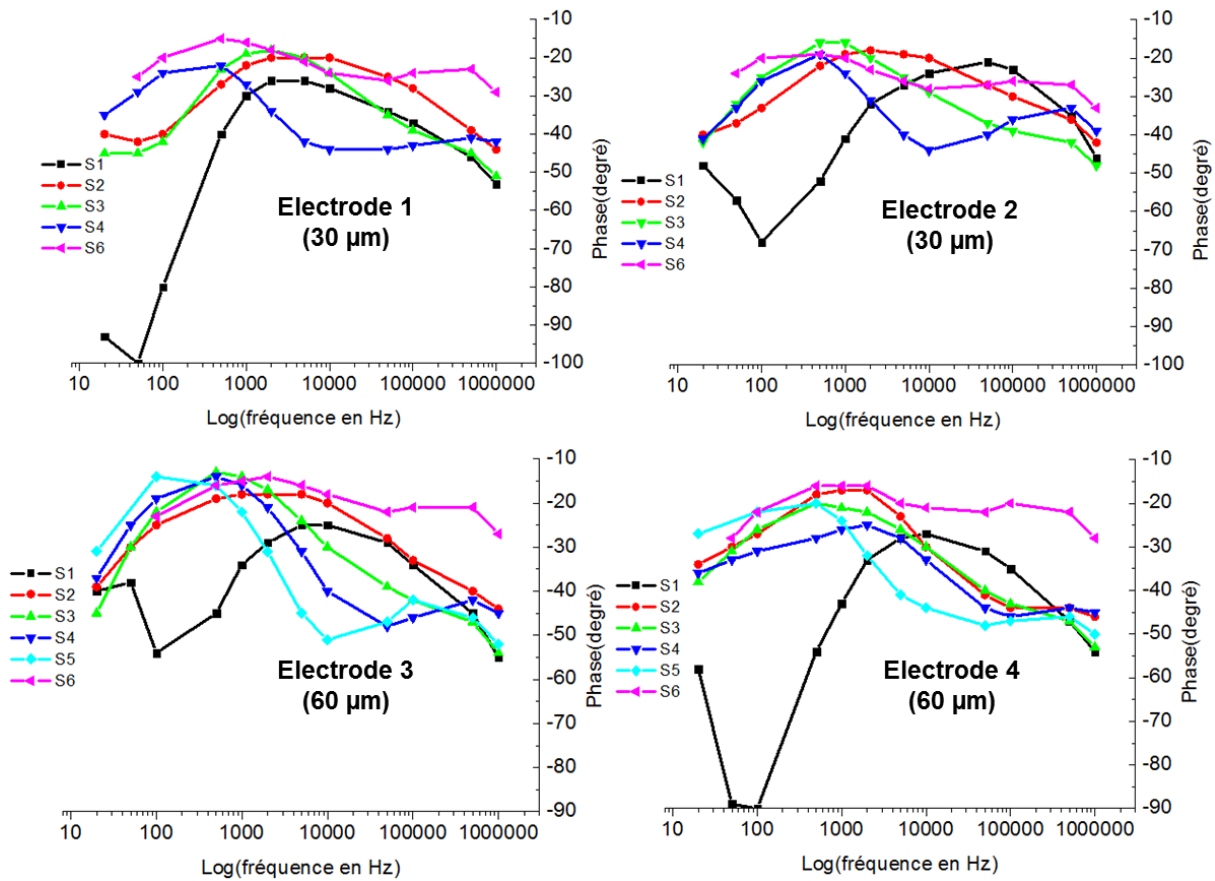
Avec cet implant 3D, nous observons un comportement identique de l'évolution en impédance et en phase des 4 électrodes. Les impédances présentent à la 1^{ère} semaine d'implantation un palier de résistance entre 1 kHz et 10 kHz (comme les implants diamant) qui diminue en 2^{ème} semaine, augmente et se déplace vers les basses fréquences en 3^{ème} semaine jusqu'à la 5^{ème} semaine où elle diminue jusqu'à la 6^{ème} semaine. En 5^{ème} semaine lors des mesures d'impédance, le rat s'est réveillé c'est pourquoi nous n'avons pas pu mesurer l'électrode 1 et 2. Celui-ci est également décédé de cause indéterminée après la 6^{ème} semaine.



Graphe 25 - Suivi d'impédances dans le temps de 4 électrodes de l'implant 2-3D-4 (3D platine noir) sur une large gamme de fréquence pendant 6 semaines

Les phases sont assez fluctuantes et suivent la tendance des impédances où entre la 3^{ème} et la 4^{ème} semaine, le PRF se déplace vers les basses fréquences.

L'important changement des impédances et des PRF pourrait comme l'implant précédent (W38-2) traduire le début de l'altération des électrodes.



Graph 26 - Suivi des phases dans le temps de 4 électrodes de l'implant 2-3D-4 (3D platine noir) sur une large gamme de fréquence pendant 6 semaines

Les images OCT et fond d'œil (Figure 115) montrent que la rétine s'est recollée à l'implant dès la 1^{ère} semaine jusqu'à l'explantation et que la position de l'implant dans l'œil est stable durant toute l'implantation.

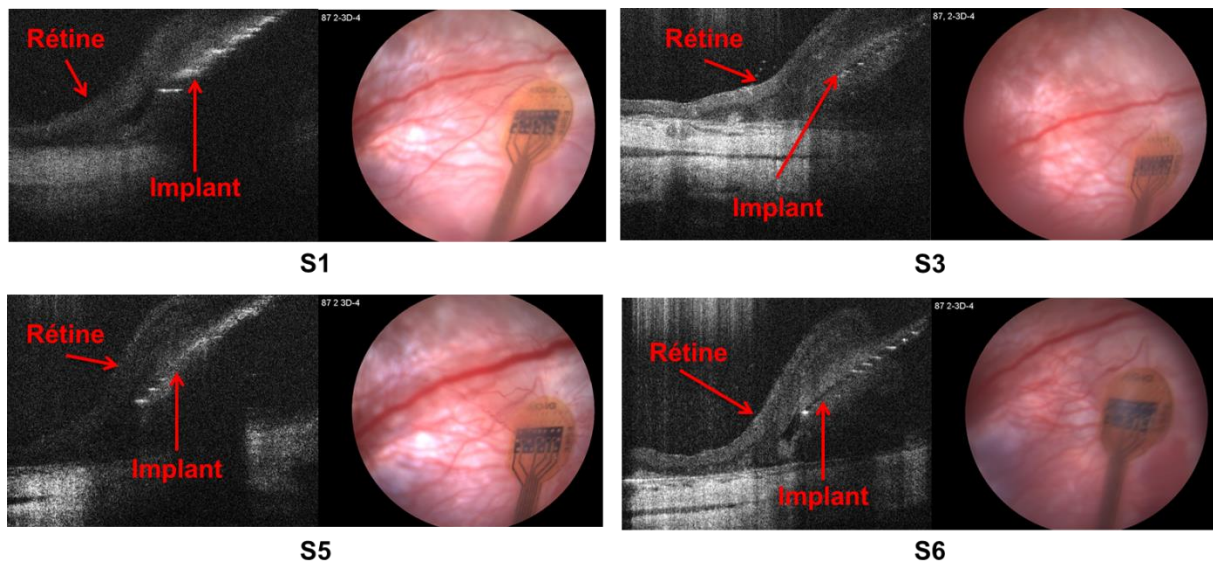


Figure 115 - Images OCT et fond d'œil de l'implant W38-2 (platine noir) de la 1^{ère}, 3^{ème}, 5^{ème} et 6^{ème} semaine d'implantation

Après le décès du rat, l'implant a été explanté, nettoyé et observé au MEB (Figure 116). Le platine noir sur les électrodes de l'image prise au MO (Figure 116 – A) semble s'être légèrement délaminé car les électrodes apparaissent grises, surtout les grosses électrodes. Au MEB (Figure 116 – B à F), on peut apercevoir que le platine noir est toujours présent sur les électrodes ce qui démontre l'intérêt de réaliser des structures tridimensionnelles. On voit également sur le platine noir du tissu de nature indéterminée (Figure 116 – D et F) qui pourrait être issu d'une réaction immunitaire ce qui expliquerait l'augmentation de l'impédance en 2^{ème} semaine d'implantation. En effet, l'électrolyte utilisé pour l'électrodéposition du platine noir contient des particules de plomb, toxiques pour les cellules [91].

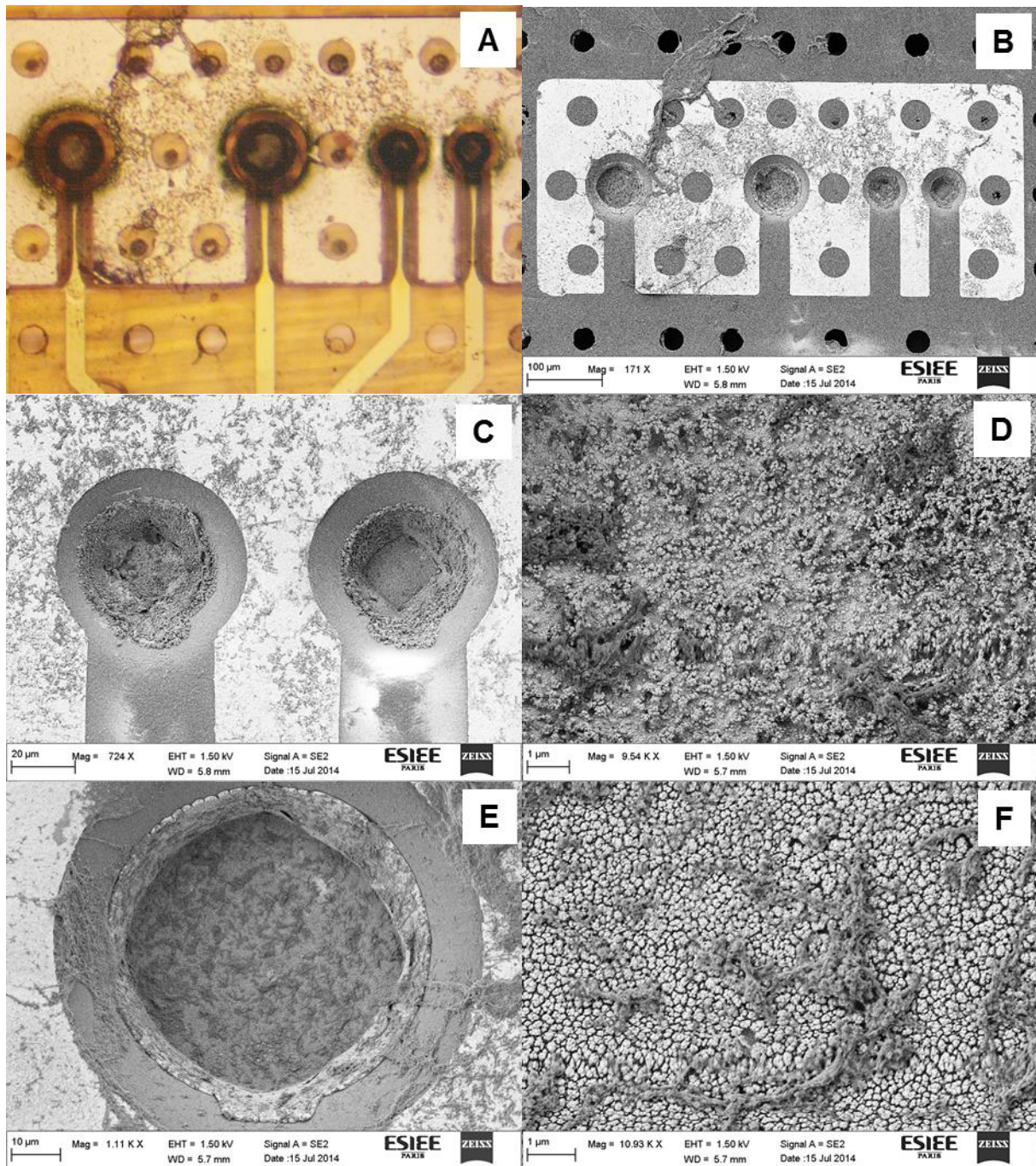


Figure 116 – Images de l’implant 2-3D-4 (électrodes 3D en platine noir) explanté après 6 semaines : vues au MO (A) et MEB (B à F), de 2 petites électrodes (C et D) et d’une grosse électrode (E et F) à différents zoom

7.5 Récapitulatif

Nous avons pu suivre et corréler l’évolution des mesures in-vivo avec les imageries des implants en platine noir et en diamant. Après l’implantation, nous observons en général une diminution de l’impédance suite à la résorption du gel et/ou de sang suite à la chirurgie et une

augmentation de l'impédance lorsque la rétine est en contact avec les électrodes. Ce contact se manifeste par un changement de l'allure des courbes d'impédance qui présente un palier résistif entre 1 kHz et 50 kHz tandis que les PRF se déplacent vers les basses fréquences. Parfois de grandes variations ont été observées pour les mesures en impédance, pas seulement d'un rat à un autre mais aussi entre les électrodes d'un même implant. On peut noter que les impédances mesurées semblent plus stables avec le diamant dès les premières mesures d'impédances comparé au platine noir car elles présentent moins de fluctuations.

L'explantation des implants montre que la délamination locale du diamant est moins importante que le platine noir et qu'une structure tridimensionnelle aiderait à réduire la dégradation des électrodes.

8. Conclusion

Les MEA fabriquées ont été testées afin de valider leur fonctionnement in-vitro ou in-vivo. Les MEA rigides en diamant ont effectué in-vitro des enregistrements classiques d'activités électriques neuronales mais d'autres tests notamment des expériences en stimulation restent encore à être réalisées. Concernant les fourchettes MEA, les enregistrements in-vitro se poursuivent actuellement et des tests en stimulation seront également réalisés.

L'étude chronique des mesures d'impédances in-vivo de la rétine avec les implants rétinien au cours du temps donne des résultats qui ne sont pas évidents à interpréter du fait d'un grand nombre de résultats différents obtenus. De plus, nous nous sommes confrontés à beaucoup de difficultés inattendues dans les manipulations biologiques telles qu'une grande perte du nombre de rat après l'implantation. Ces mesures in-vivo sont particulièrement difficiles à corréler car elles dépendent de plusieurs facteurs. Il y a d'une part les phénomènes biologiques c'est-à-dire des variations d'impédance liés à la chirurgie, celles dues au rapprochement ou au contact de la rétine sur les électrodes et d'autre part ceux liés à l'implant lui-même c'est-à-dire les variations dues au mouvement mécanique et aux dégradations éventuelles de l'implant. Cependant nous avons pu comprendre l'évolution générale des courbes d'impédance des implants (mesurées sur une gamme de fréquence de 20 Hz à 1 MHz) par corrélation avec les imageries des implants pendant l'implantation (OCT, fond d'œil) et après explantation (MO et MEB). En général, nous avons une diminution de l'impédance après l'implantation lorsque la rétine ne s'est pas encore recollée à l'implant. Cette évolution

serait liée à la dissipation du gel injecté pour le décollement de l'implant et/ou à la résorption du sang engendré suite à l'opération. Nous avons ensuite une augmentation et/ou une stabilisation de l'impédance lorsque la rétine est en contact avec les électrodes. A ce moment, nous obtenons la même allure des courbes d'impédances pour tous les implants correspondant à celle trouvée dans la littérature. Les gammes de résistance de tissu présentent un palier de fréquence se situant entre 1 kHz et 50 kHz. La dégradation des électrodes en platine noir et en diamant semblent être plus importantes lorsque la rétine n'est pas en contact avec l'implant et résulteraient de la contrainte mécanique exercée par le recollement de la rétine sur l'implant. Plus le recollement est rapide et moins l'implant se dégrade. Concernant celles en diamant, de manière à limiter cette dégradation, il serait intéressant d'augmenter l'épaisseur de la couche de diamant déposée. Il a été démontré avec un implant en platine qu'une structure tridimensionnelle comparée à une structure planaire réduisait la dégradation de l'électrode.

Des acquisitions in-vivo d'impédances d'implants planaires et tridimensionnelles se poursuivent actuellement afin d'avoir une base de données plus grandes.

Des mesures in-vitro restent aussi à être réalisées afin de confirmer la diminution de l'impédance causée par la dissipation du gel et/ou à la résorption du sang après l'opération mais aussi l'augmentation de l'impédance suite au contact de la rétine sur les électrodes ainsi que les variations d'impédance dû au rapprochement de la rétine sur l'implant.

Les prochaines étapes seront des tests de stimulations électriques et des enregistrements en imagerie corticale du rat afin de valider le concept 3D dans sa globalité. Des études sont menées à l'IDV pour mettre en place cette manipulation et le protocole opératoire.

Conclusion générale et perspectives

La communication entre les neurones est une fonction essentielle car elle est à l'origine de nos sensations, mouvements, pensées et émotions, si bien que lorsque des liaisons entre les neurones se rompent, dépendant du type de neurones, nos fonctions mentales, physiques ou sensorielles peuvent en être altérées. Lorsqu'il y a une rupture au niveau des nerfs, ce sont les fonctions physiques tandis que lorsqu'elle touche la rétine, ce sont les fonctions visuelles d'une personne qui se trouvent par exemple modifiées. Ces travaux de thèse ont contribué au développement de différentes MEA rigides et souples dédiées à ces applications de recherche axées sur la réhabilitation motrice et visuelle.

Dans un premier temps, des MEA planaires en diamant sur substrats rigides ont été réalisées, caractérisées et testées in-vitro pour l'étude de la rétine et de la moelle épinière de rat. Ces expériences ont démontré que le diamant peut être utilisé comme matériau d'électrode pour l'enregistrement des signaux neuronaux. Des caractérisations restent encore à faire afin d'évaluer les performances en stimulation des électrodes en diamant.

Parallèlement, des études plus approfondies de la moelle épinière ont requis le développement et la réalisation de MEA de type pénétrant en forme de fourchettes pour pouvoir pénétrer la moelle. Ces MEA ont été conçues dans le cadre du projet ANR Blanc HYRENE afin de stimuler et enregistrer les CPG en vue de rétablir à terme la connexion électrique des nerfs de patients paralysés. Ces MEA nécessitent de plus amples caractérisations et pour cela, la création d'une interface de connexion entre ces MEA et les appareils de caractérisation tels que le potentiostat de Bio-Logic. Actuellement, des expériences in-vitro consistent à localiser ces CPG, les enregistrer et les stimuler électriquement et pharmacologiquement de manière reproductible avec des MEA commerciales. Ensuite, elles seront réalisées avec les MEA fabriquées dans cette thèse puis ultimement avec ces dernières couplées à un réseau de neurones artificiels.

L'utilisation de technologie dans l'in-vivo requiert des MEA souples. Idéalement, le dispositif devrait être rigide pour que le chirurgien puisse l'implanter mais souple et flexible

in-vivo pour épouser les tissus ce qui permet au corps de se comporter comme lorsqu'il n'y a pas l'implant. L'utilisation de nouveaux polymères tels que ceux développés par l'université du Texas [145] est à envisager pour les futures MEA utilisées in-vivo où, à température ambiante, le polymère est rigide mais une fois implanté, sous l'effet de la chaleur, s'enroule autour d'un nerf ou se conforme à son environnement.

Dans un second temps, le procédé de fabrication des MEA en diamant sur substrats rigides a été réadapté en intégrant un polymère en vue d'obtenir des MEA sur des substrats souples, compatibles avec les expériences in-vivo. Ces MEA en diamant sur substrats souples ont été développées en tant qu'implants rétiniens dans le projet européen NEUROCARE. Des travaux de modélisation numérique précédemment menés par notre partenaire de l'IDV [53] ont démontré qu'avec grille de masse et une structure tridimensionnelle, la stimulation serait plus localisée ce qui offrirait une meilleure résolution visuelle. Avec COMSOL, la modélisation des électrodes d'implants rétiniens nous a permis de voir la distribution du courant et la densité de courant maximale obtenues avec les différents matériaux d'électrodes au sein d'une structure tridimensionnelle. Pour démontrer et valider le concept 3D in-vivo, nous avons donc réalisé des prototypes d'implants rétiniens avec une structure planaire et tridimensionnelle afin de comparer ces deux géométries. Deux matériaux d'électrodes ont été évalués, du diamant dopé, un matériau connu pour sa résistance dans le temps et des électrodes en or ou en platine pour lesquelles l'électrodéposition de platine noir a permis d'augmenter la surface active de l'électrode.

Les mesures électrochimiques (CV, EIS, test d'impulsion électrique) ont permis de caractériser et d'évaluer les performances des implants après leur fabrication. La CV a montré que nous avons bien obtenu différentes fenêtres de potentiel correspondant à chaque matériau d'électrodes, l'EIS a mesuré l'impédance et la phase des électrodes dans le PBS sur une gamme de fréquence de 100 kHz à 100 MHz et enfin les tests en impulsion électrique ont déterminé la capacité d'injection de charge des matériaux. Ces caractérisations suggèrent que le diamant dopé présente un comportement similaire aux électrodes métalliques (or ou platine) n'ayant pas subi de modification de surface du point de vue de l'impédance. Comparé au platine noir, le diamant dopé présente cependant une impédance élevée et une capacité d'injection de charge plus faible que celui-ci mais qui peuvent être améliorées par des méthodes de structuration pour accroître la surface de l'électrode en diamant telle que les nanofils de diamant développé dans le projet européen NEUROCARE [146], [147] (Figure 117 : A et B) et dans le cadre d'une thèse, [148], et les nano-alvéoles en diamant [149]

(Figure 117 : C et D). Comparé à n'importe quel autre matériau, le diamant dopé possède la plus large fenêtre de potentiel ce qui lui permettra d'injecter plus de courant sans créer de réactions indésirables telles que la modification de pH dans le milieu.

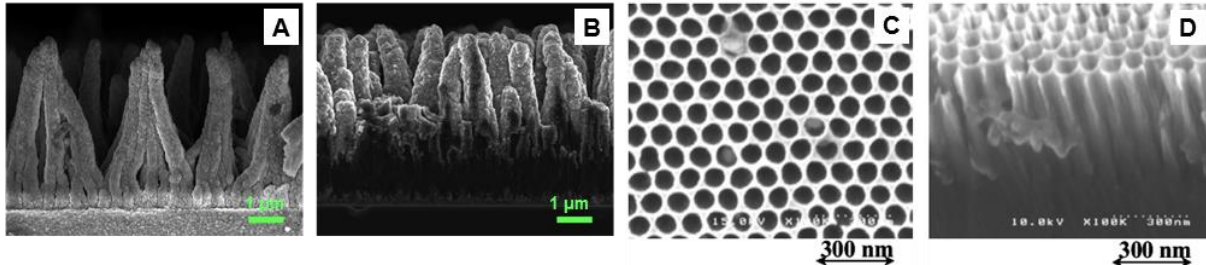


Figure 117 - Diamant nanostructuré : nanofil (A et B), nanopores (C) et sa vue en coupe (D)

Les mesures et le suivi en impédance des implants en in-vivo permettent d'observer et d'étudier leur évolution dans le temps. Plus d'une dizaine d'implants rétinien avec des électrodes planaires en platine noir et diamant ont été implantés chez des rats porteurs de la mutation P23H où leur rétine exprime une dégénérescence des photorécepteurs identiques chez l'humain. On peut suivre le changement d'allure des courbes d'impédance observé sur une large fréquence (de 20 Hz à 1 MHz) lorsque les électrodes sont placées dans un milieu biologique (œil du rat) ou lorsqu'elles sont en contact avec un tissu biologique (rétine du rat). Similairement à la littérature, on note une augmentation de l'impédance une fois la rétine en contact avec les électrodes [142]. Cette évolution est due au tissu biologique qui est plus résistif que le milieu ou bien elle peut également signifier la présence d'une inflammation des tissus qui peut de cette façon être surveillée. Dans le cas des électrodes en diamant, des études préliminaires ont déjà prouvé la biocompatibilité du diamant tandis que celles en platine noir, des questions concernant sa cytotoxicité¹⁷ se posent étant donné que l'électrolyte utilisé pour son électrodéposition contient des particules de plomb, toxiques pour les cellules [91]. Il est donc important de pouvoir distinguer afin d'attribuer l'évolution de l'impédance aux phénomènes biologiques (inflammation suite à la chirurgie ou à une réaction immunitaire, rapprochement ou contact de la rétine sur les électrodes, fluctuation dans le milieu biologique) et à ceux liés à l'implant (vieillesse et/ou dégradation de l'implant naturelle ou occasionné lors de l'implantation).

Les mesures d'impédance obtenues étant très dépendantes de la chirurgie, un travail important d'optimisation d'implantation doit être effectué afin d'avoir des résultats plus

¹⁷ Propriété à avoir un effet nocif sur les cellules

reproductibles et plus nombreux. En parallèle, des tests in-vitro de vieillissement des matériaux mais aussi des implants avec une rétine explantée devraient être menés, ce qui faciliterait la corrélation entre l'évolution de l'impédance et les phénomènes biologiques ou ceux liés à l'implant. De plus des études de tissu après explantation de l'implant devront être réalisées pour évaluer l'inflammation des tissus.

Les implants rétiniens avec des électrodes tridimensionnelles (sous forme de cuvette) en platine noir ont été réalisés et quelques-uns ont été implantés. Suite à des problèmes techniques du réacteur de croissance, la fabrication des implants fonctionnels avec des électrodes tridimensionnelles en diamant redémarrera bientôt. Les mêmes expériences biologiques de suivi seront également réalisées selon le protocole mis en place lors de ces travaux.

Les images MEB des implants planaires explantés, corrélées avec les images OCT nous indiquent que la dégradation des implants en platine noir est plus prononcée que celles des électrodes en diamant. Elle est probablement due aux frictions ou aux mouvements de l'implant dans l'œil et est d'autant plus importante lorsque la rétine ne s'est pas recollée rapidement à l'implant. Sous de bonnes conditions d'implantation, le diamant reste un bon candidat en tant qu'électrode mais certaines optimisations, notamment l'augmentation de l'épaisseur du dépôt de diamant (500 nm au lieu de 300 nm) permettrait d'améliorer sa tenue sur l'implant. Avec les électrodes 3D en platine noir, on observe que cette dégradation est modérée. L'intérêt des structures 3D permet donc aussi de réduire la dégradation des électrodes dans le milieu biologique.

Enfin, des expériences en stimulation avec les implants rétiniens (planaires et tridimensionnels) in-vitro et en parallèle in-vivo avec l'enregistrement du cortex visuel du rat seront mis en place pour confirmer l'avantage des structures 3D par rapport à celles planaires pour une stimulation plus locale.

Lorsque la stimulation avec les structures 3D sera validée, la prochaine étape sera la réalisation d'implants avec un nombre plus important d'électrodes. Etant donné que nous avons rencontré des difficultés de la réalisation de ces implants 3D, il sera judicieux de remplacer le polyimide où son épaisseur n'est pas homogène sur tout le moule 3D étant donné qu'il est déposé par centrifugation. De plus, le polyimide nécessite des étapes de recuit à haute température ce qui introduit des contraintes qui sont dues aux différents coefficients de dilatation thermique du substrat et également du métal. Cela affecte alors le rendement et la reproductibilité. Le parylène semble être un meilleur matériau car il est déposé à basse température (température ambiante) et l'épaisseur de son dépôt est plus uniforme. Des essais

sur parylène sont actuellement en cours pour remplacer le polyimide. La création des futurs implants rétiniens 3D avec des électrodes de hautes densités requerront l'utilisation de techniques plus précises telles que le laser (pour les découpes) ou l'ion beam.

Une étude serait intéressante à mener aussi sur la surface des électrodes ainsi que du substrat (souple ou rigide) qui jouerait un rôle dans l'adhésion des protéines et cellules qui sont aussi caractéristiques de la biocompatibilité des cellules [150]. En effet, les biomatériaux tels que les polymères sont en général hydrophobes et ont une grande affinité avec de nombreuses protéines et moins avec les cellules. Le changement de conformation de ces protéines adsorbées est supposé être responsable des réactions biologiques défavorables (inflammation, réaction immunitaire, coagulation) [150], [151]. La modification des propriétés de surface du matériau par des techniques chimiques (fonctionnalisation de surface) ou physiques (altération de la morphologie de la surface) permettrait alors d'améliorer l'adhésion et le contact entre le dispositif et le tissu biologique.

Finalement, nous obtenons des résultats encourageants où les expériences in-vitro et in-vivo montrent que nos MEA fabriquées sont fonctionnelles mais qu'un travail d'optimisation sur les matériaux (substrat, électrode), notamment le diamant qui semble très prometteur pour les futures générations de système de réhabilitation fonctionnelle. Cependant, des expériences in-vitro et in-vivo restent encore à mener afin d'obtenir de meilleurs MEA implantables. Les mesures in-vivo en impédance de ces MEA sur une large gamme de fréquence permettent de détecter la présence de tissu à la surface de l'électrode et cette aptitude serait intéressante pour d'autres applications en recherche, par exemple pour l'étude des réactions immunitaires (suivi au cours du temps de l'encapsulation d'électrodes par des cellules gliales ou d'autres cellules).

Pour conclure, ces travaux de thèse ont contribué à 3 points essentiels :

1. Développement de nouvelles interfaces pour l'enregistrement des signaux neuronaux pour le vivant et l'expérimentation en laboratoire
2. Test d'un nouveau matériau : le diamant dopé comme interface neuro-électronique qui a été démontré biocompatible et validé in-vitro et in-vivo
3. Validation d'un protocole chirurgical et technique pour le suivi des implants rétiniens in-vivo

Travaux scientifiques

➤ Brevet

L. Rousseau, G.Lissorgues, **M. Cottance**, S. Picaud, J. Degardin, P. Bergonzo, E. Scorsone, "Filière de fabrication d'implant 3D pour la stimulation focale" en cours de dépôt

➤ Publications (revues et articles de proceedings)

M. Cottance, C. Hébert, J. Dégardin, L. Rousseau, E. Scorsone, P. Bergonzo, S. Picaud, G. Lissorgues, "From Planar To Tri-Dimensional Fabrication Of Polymer-based Retinal Implants", MEMS 2015, soumis le 8 septembre 2014

M. Cottance, L. Rousseau, G. Lissorgues, A. Bongrain, R. Kiran, E. Scorsone , P. Bergonzo, A. Bendali, S. Picaud, S. Joucla, B. Yvert , "Diamond Microelectrode Arrays: a new route for in-vitro applications", IEEE MITE 2013 Conference Proceedings, 2014.

C. Hébert, E. Scorsone, A. Bendali, R. Kiran, **M. Cottance**, J. Degardin, G. Lissorgues, L. Rousseau, S. Picaud, P. Bergonzo, "Boron doped Diamond Biotechnology: from sensors to neurointerfaces", Faraday Discussions 172 : carbon in Chemistry, Royal Chemical Society, mars 2014.

M. Cottance, J. Degardin, C. Hébert, G.Lissorgues, L. Rousseau, O. Marre, S. Picaud, P. Bergonzo, "Implants rétiens: les apports des micro et nano technologies" Handicap 2014.

L. Rousseau, E. Scorsone, A. Bendali, M. Djilas, H. Girard, **M. Cottance**, S. Joucla, E. Dubus, J. Degardin, B. Yvert, G. lissorgues, P. Bergonzo, S. Picaud "Soft 3D retinal implants with diamond electrode a way for focal stimulation",Proceeding of the 17th int. Conf. on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers'13), Barcelone, 2013.

M. Cottance, L. Rousseau, G. Lissorgues, « Diamond Microelectrode Arrays : "a new route for in-vitro applications", Conférence DTIP 2013, Barcelone, Avril 2013,.

L. Rousseau, R. Kiran, A. Bongrain, **M.Cottance**, S.Joucla, B. Yvert, E.Scorsone, R.Caplette,A. Bendale, G. Lissorgues, S. Picaud, P.Bergonzo, "Nanograss boron doped diamond microelectrode arrays for recording and stimulating neuronal tissues" Proceeding of the 17th int. Conf. on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers'13), Barcelone, 2013.

M. Cottance, S. Nazeer, L. Rousseau, G. Lissorgues, S. Joucla, B. Yvert, N. Lewis, Y. Bornat, S. Renaud, « Challenges in Recording and Stimulation of living neural network based on Original Micro-Electrode Array (MEA) developments",conférence Newcas, Paris, 2013.

➤ **Conférences et communications**

Groupe De Recherche Micro/Nano Systèmes (GDR MNS) le 10 et 11 décembre 2013 à Toulouse :

- Présentation poster "Innovation in retinal implants"

7th Nano and Micro Systems (NAMIS) International school du 3 au 7 septembre 2013 à Séoul, en Corée du Sud :

- Présentation poster "Innovation in retinal implants" (Best poster award)

Jour des projets à l'ESIEE le 25 juin 2013 :

- Présentation poster "Micro/Nano-technologies pour la fabrication d'implants rétiniens" (prix d'honneur du jury)

Journée des doctorants de l'école doctorale MSTIC de l'Université Paris Est, le 5 juin 2013 à l'ESIEE :

- Présentation orale "Micro-Electrode Arrays (MEAs): from in-vitro towards in-vivo neural applications".

Design, Test, Integration & Packaging of MEMS/MOEMS (DTIP) le 16-18 avril 2013 à Barcelone:

- Présentation orale "Diamond Microelectrode Arrays : a new route for in-vitro applications"

Nature Inspires Chemistry Engineers (N.I.C.E) le 3-5 octobre 2012 à Nice:

- Présentation poster "Characterization of Retinal Implants for the Stimulation and Recording of Retinal Cells"

Journée des doctorants du laboratoire ESYCOM le 23 mars 2013 à l'ESIEE :

- Présentation poster "Microtechnologies for electrical recording and stimulation of neuronal cells"

Bibliographie

- 1 J.-U. Meyer, "Retina implant – a bioMEMS challenge", *Sensors and Actuators. A, Physical A* 97-98, pp. 1-9, 2002.
- 2 B. S. Wilson and M. F. Dorman, "Cochlear implants: Current designs and future possibilities," *JRRD*, Vol. 45, N° 5, pp. 695-730, 2008.
- 3 T. S. Grabow and al., "Spinal Cord Stimulation for Complex Regional Pain Syndrome: An evidence-based Medicine Review of the literature," *The Clinical Journal of Pain*, Vol. 19, No. 6, pp. 371-383, 2003.
- 4 M. L. Kringelbach, N. Jenkinson, S. L. F. Owen, and T. Z. Aziz, "Translational principles of deep brain stimulation.," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 8, no. 8, pp. 623–35, Aug. 2007.
- 5 D. Zhou, E. S Greenbaum, *Implantable Neural Prostheses 1: Devices and Applications.*, Springer, 2009.
- 6 A. Stett and al., "Biological application of microelectrode arrays in drug discovery and basic research", *Anal Bioanal Chem*, vol. 377, pp. 486-495, 2003.
- 7 <http://www.inserm.fr/>.
- 8 <http://passeport.univ-lille1.fr/>.
- 9 S. I. Fried, H. A. Hsueh, and F. S. Werblin, "A method for generating precise temporal patterns of retinal spiking using prosthetic stimulation," *J. Neurophysiol.*, vol. 95, pp. 970–978, 2006.
- 10 F. O. Morin, Y. Tkamura, E. Tamiya, "Investigating Neural Activity with Planar Microelectrode Arrays: Achievements and New Perspectives", vol. 100, N°2, pp. 131-143, 2005.
- 11 D. a Borkholder, J. Bao, N. I. Maluf, E. R. Perl, and G. T. Kovacs, "Microelectrode arrays for stimulation of neural slice preparations.," *J. Neurosci. Methods*, vol. 77, no. 1, pp. 61–6, Nov. 1997.
- 12 K. Mathieson et al, "Detection of retinal signals using position sensitive microelectrode arrays," *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. A Accel. Spectrometers*, vol. 513, no. 1–2, pp. 51–56, Nov. 2003.
- 13 <http://www.med64.com/products/technology.html>.
- 14 F. Hofmann and H. Bading, "Long term recordings with microelectrode arrays: studies of transcription-dependent neuronal plasticity and axonal regeneration.," *J. Physiol. Paris*, vol. 99, no. 2–3, pp. 125–32, 2006.
- 15 S. Vassanelli, P. Fromherz, and D.-M. Mu, "Transistor Probes Local Potassium Conductances in the Adhesion Region of Cultured Rat Hippocampal Neurons," *J. Neurosciences*, vol. 19, no. 16, pp. 6767–6773, 1999.
- 16 P. J. Rousche, R. A. Normann, "Chronic recording capability of the Utah Intracortical Electrode Array in cat sensory cortex". *J. Neurosci. Methods* 82:1–15, 1998.
- 17 <http://www.blackrockmicro.com>.
- 18 P. Thiébaud et al., "An array of Pt-tip microelectrodes for extracellular monitoring of activity of brain slices.," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 14, no. 1, pp. 61–5, Jan. 1999.
- 19 M. O. Heuschkel, M. Fejtl, M. Raggenbass, D. Bertrand, and P. Renaud, "A three-dimensional multi-electrode array for multi-site stimulation and recording in acute brain slices.," *J. Neurosci. Methods*, vol. 114, no. 2, pp. 135–48, Mar. 2002.

- 20 R. Bhandari, S. Negi, L. Rieth, R. A. Normann, F. Solzbacher “A Novel Method of Fabricating Convuluted Shaped Electrode Arrays for Neural and Retinal Prostheses,” *Sens Actuators A Phys*, 145-146(1-2): 123–130, 2008.
- 21 <http://www.neuronexustech.com/science-update/penetrating-electrodes>.
- 22 Q. Bai and K. D. Wise, “Single-Unit Neural Recording with Active Microelectrode Arrays,” vol. 48, no. 8, pp. 911–920, 2001.
- 23 J. Csicsvari et al. “Massively Parallel Recording of Unit and Local Field Potentials With Silicon-Based Electrodes Massively Parallel Recording of Unit and Local Field Potentials With Silicon-Based Electrodes,” pp. 1314–1323, 2013.
- 24 C. Pang et al, “A new multi-site probe array with monolithically integrated parylene flexible cable for neural prostheses.,” *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, vol. 7, pp. 7114–7, Jan. 2005.
- 25 M. W. Varney, D. M. Aslam, A. Janoudi, H.-Y. Chan, and D. H. Wang, “Polycrystalline-Diamond MEMS Biosensors Including Neural Microelectrode-Arrays,” *Biosensors*, vol. 1, no. 3, pp. 118–133, Aug. 2011.
- 26 <http://travail-emploi.gouv.fr/IMG/pdf/2013-066.pdf>.
- 27 <http://www.kurzweilai.net/woman-with-quadruplegia-feeds-herself-chocolate-using-mind-controlled-robot-arm>.
- 28 R. J. Vogelstein, F. Tenore, R. Etienne-Cummings, M. A. Lewis, and A. H. Cohen, “Dynamic control of the central pattern generator for locomotion.,” *Biological cybernetics*, vol. 95, no. 6, pp. 555–66, Dec. 2006.
- 29 <http://www.bibnum.education.fr/sites/default/files/Magendie-analyse.pdf>.
- 30 S. P. Lacour et al., “Flexible and stretchable micro-electrodes for in vitro and in vivo neural interfaces.,” *Medical & biological engineering & computing*, vol. 48, no. 10, pp. 945–54, Oct. 2010.
- 31 C. Hassler, T. Boretius, and T. Stieglitz, “Polymers for neural implants,” *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 49, no. 1, pp. 18–33, Jan. 2011.
- 32 H. Kolb, “How the Retina Works,” *American Scientist*, vol. 91, 2003.
- 33 Dr B. Pidoux, physio.ticemed.upmc.fr/wp-content/uploads/sites/7/2014/01/etudespsychomotricitevision12011.pdf, “Cours sur la neurophysiologie de la vision,” 2011.
- 34 C. Hamel, “Retinitis pigmentosa.,” *Orphanet J. Rare Dis.*, vol. 1, p. 40, Jan. 2006.
- 35 H. R. Coleman, C. Chan, F. L. F. Iii, and E. Y. Chew, “Age-related macular degeneration,” *Lancet*. vol. 372, no. 9652, pp. 1835–1845, 2008.
- 36 http://www.irrp.asso.fr/?page_id=357.
- 37 Emmanuel Monnier, Tu:2nd la macula disparaît, *Sciences & Vie Hors série n° 216*, sept. 2001.
- 38 <http://2-sight.eu/fr/home-fr>.
- 39 G. J. Chader, J. Weiland, and M. S. Humayun, *Artificial vision: needs, functioning, and testing of a retinal electronic prosthesis.*, vol. 175, no. 09. Elsevier, 2009, pp. 317–32.
- 40 <http://retina-implant.de/en/about/default.aspx>.
- 41 http://www.willseye.org/sites/all/files/Wills_Eye_Retina_Implant.pdf.
- 42 <http://www.pixium-vision.com/>.
- 43 C. Hecketsweiler, "Pixium redonne la vue aux aveugles", *Le Monde*, 2/05/2014.

- 44 G. Roessler et al., "Implantation and explantation of a wireless epiretinal retina implant device: observations during the EPIRET3 prospective clinical trial.," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 50, no. 6, pp. 3003–8, Jun. 2009.
- 45 H. Meffin, "What limits spatial perception with retinal implants ?," *NeuroEngineering Laboratory & Centre for Neural Engineering , The University of Melbourne*, pp. 1545–1549, 2013.
- 46 <http://www.opthalmologymanagement.com/articleviewer.aspx?articleID=106374>.
- 47 H. Lorach, O. Marre, J.-A. Sahel, R. Benosman, and S. Picaud, "Neural stimulation for visual rehabilitation: advances and challenges.," *J. Physiol. Paris*, vol. 107, no. 5, pp. 421–31, Nov. 2013.
- 48 J. D. Weiland and M. S. Humayun, "Visual Prosthesis," *Proc. IEEE*, vol. 96, no. 7, pp. 1076–1084, Jul. 2008.
- 49 H. Ave, "Encoding Visual Information in retinal ganglion cells with prosthetic stimulation," *J. Neural Eng.*, vol. 8, no. 3, pp. 1–31, 2012.
- 50 F. Hofmann and H. Bading, "Long term recordings with microelectrode arrays: studies of transcription-dependent neuronal plasticity and axonal regeneration.," *J. Physiol. Paris*, vol. 99, no. 2–3, pp. 125–32, 2006.
- 51 S. Joucla, P. Branchereau, D. Cattaert, and B. Yvert, "Extracellular neural microstimulation may activate much larger regions than expected by simulations: a combined experimental and modeling study.," *PLoS One*, vol. 7, no. 8, p. e41324, Jan. 2012.
- 52 S. Joucla, L. Rousseau, and B. Yvert, "Focalizing electrical neural stimulation with penetrating microelectrode arrays: a modeling study.," *J. Neurosci. Methods*, vol. 209, no. 1, pp. 250–4, Jul. 2012.
- 53 M. Djilas et al., Three-dimensional electrode arrays for retinal prostheses: modeling, geometry optimization and experimental validation, *J Neural Eng.*, 2011.
- 54 http://www.esiee.fr/download/presse/FIGARO_retine_2013-03-23.pdf.
- 55 A. Kraft, G. Gmbh, and K. Str, "Doped Diamond : A Compact Review on a New , Versatile Electrode Material," *Rev. Lit. Arts Am.*, vol. 2, pp. 355 – 385, 2007.
- 56 E. Vanhove, J. de Sanoit, P. Mailley, M. -a. Pinault, F. Jomard, and P. Bergonzo, "High reactivity and stability of diamond electrodes: The influence of the B-doping concentration," *Phys. Status Solidi*, vol. 206, no. 9, pp. 2063–2069, Sep. 2009.
- 57 A. Bendali, C. Agnès, S. Meffert, V. Forster, A. Bongrain, J.-C. Arnault, J.-A. Sahel, A. Offenhäusser, P. Bergonzo, and S. Picaud, "Distinctive glial and neuronal interfacing on nanocrystalline diamond.," *PLoS One*, vol. 9, no. 3, p. e92562, 2014.
- 58 V. S. Polikov, P. a Tresco, and W. M. Reichert, "Response of brain tissue to chronically implanted neural electrodes.," *J. Neurosci. Methods*, vol. 148, no. 1, pp. 1–18, Oct. 2005.
- 59 M. B. A. Fontes, "Electrodes for bio-application: recording and stimulation," *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 421, p. 012019, Mar. 2013.
- 60 J. Sarrazin, M. Verdaguer, *L'oxydo réduction Concepts et expériences* , édition Ellipses, Paris, 1991.
- 61 D. R. Merrill, M. Bikson, and J. G. R. Jefferys, "Electrical stimulation of excitable tissue: design of efficacious and safe protocols," *J. Neurosci. Methods*, vol. 141, no. 2, pp. 171–98, Feb. 2005.
- 62 S. F. Cogan, "Neural stimulation and recording electrodes.," *Annual review of biomedical engineering*, vol. 10, pp. 275–309, Jan. 2008.
- 63 A. Norlin, J. Pan, C. Leygraf, "Investigation of interfacial capacitance of Pt, Ti and TiN coated

- electrodes by electrochemical impedance spectroscopy", *Biomolecular Engineering* 19, 67-71, 2002.
- 64 R. B. Stein et al., "Impedance properties of metal electrodes for chronic recording from mammalian nerves", *IEEE Transactions on biomedical engineering*, Vol. BME-25, N°6, 1978.
 - 65 J. H. T. Luong, B. Male, and J. D. Glennon, "Boron-doped diamond electrode : synthesis , characterization , functionalization and analytical applications," *Analyst*, pp. 1965–1979, 2009.
 - 66 http://fr.wikipedia.org/wiki/formes_allotropiques_du_carbone.
 - 67 S. Mitura, K. Mitura, P. Niedzielski, P. Louda, V. Danilenko, and C. Republic, "Nanocrystalline diamond , its synthesis , properties and applications," *J. Achiev. Mater. Manufacturing Eng.*, vol. 16, no. 1, pp. 9–16, 2006.
 - 68 E. Woerner, C. Wild, W. Mueller-Sebert, and P. Koidl, "CVD-diamond optical lenses," *Diam. Relat. Mater.*, vol. 10, no. 3–7, pp. 557–560, Mar. 2001.
 - 69 G. A. P. Cirrone, G. Cuttone, S. Lo Nigro, V. Mongelli, L. Raffaele, and M. G. Sabini, "Dosimetric characterization of CVD diamonds in photon, electron and proton beams," *Nucl. Phys. B - Proc. Suppl.*, vol. 150, pp. 330–333, Jan. 2006.
 - 70 A. Bongrain, Thèse "Nouvelles technologies de capteurs MEMS en diamant pour application de transduction", 2011.
 - 71 R. Kiran, Thèse "Electrodes en diamant pour la fabrication de microsystèmes électrochimiques pour applications biologiques," 2012.
 - 72 T. H. Borst, O. Weis, "Boron-Doped Homoepitaxial Diamond Layers: Fabrication, Characterization, and Electronic Applications", *physica status solidi A*, 154, 423, 1996.
 - 73 Kondo et al, "Homoepitaxial single-crystal boron- doped diamond electrodes for electroanalysis", *J. Electrochem. Soc.* 149, E179–E184, 2002.
 - 74 Y. V. Pleskov et al, "Synthetic semiconductor diamond electrodes: the comparative study of the electrochemical behaviour of polycrystalline and single crystal boron-doped films. *J. Electroanal. Chem.* 455, 139–146, 1998.
 - 75 M. Alexander et al., "the influence of surface termination on the electrochemical properties of boron doped diamond", *Electrochemical Society proceedings*, 2001.
 - 76 J. Park, Y. Show, V. Quaiserova, J. J. Galligan, G. D. Fink, and G. M. Swain, "Diamond microelectrodes for use in biological environments," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 583, no. 1, pp. 56–68, Sep. 2005.
 - 77 C. E. Nebel, D. Shin, B. Rezek, N. Tokuda, H. Uetsuka, and H. Watanabe, "Diamond and biology.," *J. R. Soc. Interface*, vol. 4, no. 14, pp. 439–61, Jun. 2007.
 - 78 R. Kiran, "Electrodes en diamant pour la fabrication de microsystèmes électrochimiques pour applications biologiques," 2012.
 - 79 A. Bendali, Thèse "Brain-machine interfaces: from retinal network reconstruction to retinal implants", 2013.
 - 80 M. Schwander, K. Partes, "A review of diamond synthesis by CVD processes", *Diamond and related materials*, Vol. 20, Issues 9, p. 1287-1301, 2011.
 - 81 K. Schmetzer, "High pressure high temperature treatment of diamonds — a review of the patent literature from fi ve decades," *Journal Gemmol.*, vol. 32, no. 1, 2010.
 - 82 F. Demuyck, L. Arnault, J. C. Speisser, C. Polini, R. Lenormand, "Diamond and Related Materials", 6, 235-239, 1997.

- 83 M. Varga et al, "Study of diamond film nucleation by ultrasonic seeding in different solutions", *Central European Journal of Physics*, vol. 10, Issue1, pp 218-224, 2012.
- 84 M. M. Garcia et al, "Bias enhanced nucleation process of polycrystalline diamond films", *Superficies y Vacio* 9, 115-118, 1999.
- 85 H. A. Girard et al., "Electrostatic Grafting of Diamond Nanoparticles: Versatile Route to Nanocrystalline Diamond Thin Films", *Applied Materials Interfaces*, vol. 1, pp 2738-2746, 2009.
- 86 E. Scorsone, S. Saada, J.C. Arnault, P. Bergonzo, "Enhanced control of diamond nanoparticle seeding using a polymer matrix," *J. Appl. Phys.*, vol. 106, 014908, 2009.
- 87 O. A. Williams et al., "Enhanced diamond nucleation on monodispersed nanocrystalline diamond", *Chemical Physics Letters*, Vol. 445, Issues 4–6, p. 255–258, 2007.
- 88 B. G. K. Chandler, J. D. Genders, and D. Pletcher, "Electrodes Based on Noble Metals," *Platinum Metals Review*, vol. 41, no. 2, pp. 54–63, 1997.
- 89 A. Mills, "Platinized Platinum, Platinum Sponge and Platinum Black," *Bull. Sci. Instrum. Soc.*, vol. 89, no. 89, pp. 35–37, 2006.
- 90 A. M. Feltham and M. Spiro, "PLATINIZED PLATINUM ELECTRODES," *Chem. Rev.*, vol. 71, no. 2, pp. 177–193, 1971.
- 91 T. Boretius et al.: "High-porous platinum electrodes for functional electrical stimulation.," *IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Conference*, pp. 5404–7, Jan. 2012.
- 92 J. J. Whalen, J. Young, J. D. Weiland, and P. C. Searson, "Electrochemical Characterization of Charge Injection at Electrodeposited Platinum Electrodes in Phosphate Buffered Saline," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 153, no. 12, p. C834, 2006.
- 93 Y-F. Rui, J-Q. Liu, C-S. Yang : "Implantable Pt-Black Coated Microelectrode for Electrical Stimulation", *nanotechnology and precision engineering*, vol.10 N°2, 2012.
- 94 RongYu Tang, WeiHua, *Fabrication of strongly adherent platinum black coatings on microelectrodes array*, Science China Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013.
- 95 S. A. Desai, J. D. Rolston, L. Guo, and S. M. Potter, "Improving impedance of implantable microwire multi-electrode arrays by ultrasonic electroplating of durable platinum black", *Frontiers in neuroengineering*, vol. 3, no. May, p. 5, Jan. 2010.
- 96 C. E. Nebel and al., "Diamond for bio-sensor applications", *Journal of Physics D: Applied Physics*, 40(20), 6443–6466, 2007.
- 97 G. R. S. Banda, Y. Einaga, and C. A. Martinez-Huitle, "New Trends on the Boron-Doped Diamond Electrode: From Fundamental Studies to Applications," *Int. J. Electrochem.*, vol. 2012, pp. 1–2, 2012.
- 98 J. Parasuraman, A. Summanwar, F. Marty, P. Basset, D. E. Angelescu, and T. Bourouina, "Deep reactive ion etching of sub-micrometer trenches with ultra high aspect ratio," *Microelectron. Eng.*, vol. 113, pp. 35–39, Jan. 2014.
- 99 K. Kolari, V. Saarela, and S. Franssila, "Deep plasma etching of glass for fluidic devices with different mask materials," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 18, no. 6, p. 064010, Jun. 2008.
- 100 S. Tachi, K. Tsujimoto, and S. Okudaira, "Low temperature reactive ion etching and microwave plasma etching of silicon," *Engineering*, , pp. 616-618, 1987.
- 101 X. Li, L. Ling, X. Hua, M. Fukasawa, G.S. Oehrlein, M. Barela, and H.M. Anderson, "Effects of Ar and O2 additives on SiO2 etching in C4F8-based plasmas," *J. Vac. Sci. Technol. A*, vol. 21, pp. 284-293, 2003.

- 102 http://www.microchemicals.eu/technical_information/dry_etching_photoresist.pdf.
- 103 K.R. Williams, R.S. Muller: Etch rates for micromachining processing, *Journal of microelectromechanical systems*, vol.5, n°4, 1996.
- 104 X. Li et al.: Characteristics of C4F8 plasmas with Ar, Ne, and He additives for SiO₂ etching in an inductively coupled plasma I.C.P. reactor, *American Vacuum Society*, A 21(6), 2003.
- 105 H. Jansen et al.: A survey on the reactive ion etching of silicon in microtechnology, *J. Micromech. Microeng.*, pp. 14-28, 1996.
- 106 J. Kiihamaki, "Depth and profile control in plasma etched MEMS structures," pp. 234–238, 2000.
- 107 http://microchem.com/pdf/KMPRDataSheetver4_2a.pdf.
- 108 <http://www.qwane.com/Products/MEAs/MEAs.html>.
- 109 K. Mathieson et al.: "Detection of retinal signals using position sensitive microelectrode arrays," *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, vol. 513, no. 1–2, pp. 51–56, Nov. 2003.
- 110 J. Seo, "Biocompatibility of polyimide microelectrode array for retinal stimulation," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 24, no. 1–2, pp. 185–189, Jan. 2004.
- 111 P. J. Rousche, D. S. Pellinen, S. Member, D. P. Pivin, J. C. Williams, R. J. Vetter, and D. R. Kipke, "Flexible Polyimide-Based Intracortical Electrode Arrays with Bioactive Capability," vol. 48, no. 3, pp. 361–371, 2001.
- 112 B. Rubehn et T. Stieglitz, "In vitro evaluation of the long-term stability of polyimide as a material for neural implants.," *Biomaterials*, vol. 31, no. 13, pp. 3449–58, May 2010.
- 113 R. Ponsley, The nature of sources of bioelectric and biomagnetic fields, *Biophysical Journal*, vol. 39, 309–312, 1982.
- 114 A. Butterwick, A. Vankov, P. Huie, Y. Freyvert, and D. Palanker, "Tissue damage by pulsed electrical stimulation.," *IEEE transactions on bio-medical engineering*, vol. 54, no. 12, pp. 2261–7, Dec. 2007.
- 115 A. Pérez Fornos et al., "Temporal properties of visual perception on electrical stimulation of the retina.," *Investigative ophthalmology & visual science*, vol. 53, no. 6, pp. 2720–31, May 2012.
- 116 S. H. Greenwald, A. Horsager, M. S. Humayun, R. J. Greenberg, M. J. McMahon, and I. Fine, "Human Retinal Electrical Stimulation," no. February 2002, pp. 5017–5025, 2009.
- 117 LS Robblee, J McHardy, JM Marston, SB Brummer : "Electrical stimulation with Pt electrodes. V. The effect of protein on Pt dissolution", *Biomaterials*, Jul and 1(3):135-9, 1980.
- 118 Joucla, S. *thèse "Etude expérimentale et modélisation de la stimulation électrique extracellulaire des réseaux de neurones avec des matrices de microélectrodes (MEA) : analyse des mécanismes sous-jacents et amélioration de la focalité spatiale des stimulations"*. 2007.
- 119 R. J. Jensen, "Thresholds for Activation of Rabbit Retinal Ganglion Cells with an Ultrafine, Extracellular Microelectrode," *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 44, no. 8, pp. 3533–3543, Aug. 2003.
- 120 D. B. Shire et al., "Development and implantation of a minimally invasive wireless subretinal neurostimulator.," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 56, no. 10, pp. 2502–11, Oct. 2009.
- 121 T. Schanze and U. Thomas, "A Fully Implantable Epiretinal Vision Prosthesis for Retinitis Pigmentosa Patients," *Proc. Sens.*, pp. 157–162, 2009.
- 122 Y. Kim and M. G. Allen, "In Situ Measurement of Mechanical Properties of Polyimide Films Using Micromachined Resonant String Structures," *IEEE Trans. components Packag. Technol.*, vol. 22, no. 2, pp. 282–290, 1999.

- 123 K. Cho, D. Lee, S. Lee, and C. E. Park, "Fracture behaviour of thin polyimide films," *Polymer (Guildf).*, vol. 38, no. 96, pp. 1615–1623, 1997.
- 124 S. Park, E. Lee, and S. Kwon, "Influence of Surface Treatment of Polyimide Film on Adhesion Enhancement between Polyimide and Metal Films," vol. 28, no. 2, pp. 188–192, 2007.
- 125 S. Murray, C. Hillman, and M. Pecht, "Environmental Aging and Deadhesion of Polyimide Dielectric Films," *Journal of Electronic Packaging*, vol. 126, no. 3, p. 390, 2004.
- 126 B. Rubehn, T. Stieglitz, "Measurement of defects in spin coated polyimide films", *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, vol. 2007, pp. 183–5, 2007.
- 127 G. Turban, M. Rapeaux, L. D. P. Corpusculaire, U. De Nantes, and N. Codex, "Dry Etching of Polyimide in O -CF, and O -SF Plasmas," pp. 2231–2236.
- 128 "Polyimide Processing for PI-2600 series (not Photodefineable)," vol. 73246, no. 617, pp. 4–6, 2008.
- 129 T. Doerge, S. Kammer, M. Hanauer, A. Sossalla, and S. Steltenkamp, "Novel method for a flexible double-sided microelectrode fabrication process," vol. 7365, p. 73650K–73650K–11, May 2009.
- 130 T. Watanabe et al., "Evaluation of Platinum-Black Stimulus Electrode Array for Electrical Stimulation of Retinal Cells in Retinal Prosthesis System", *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 46, no. 4B, pp. 2785–2791, 2007.
- 131 A. E. Hadjinicolaou et al., "Electrical stimulation of retinal ganglion cells with diamond and the development of an all diamond retinal prosthesis.," *Biomaterials*, vol. 33, no. 24, pp. 5812–20, Aug. 2012.
- 132 E. M. Hudak, Thèse "Electrochemical evaluation of platinum and diamond electrodes for neural stimulation", 2011.
- 133 M. Zourob, S. Elwary, A. Turner, "Principles of Bacterial Detection: Biosensors, Recognition Receptors and Microsystems", Springer, 2008.
- 134 S. Mailley, M. Hyland, P. Mailley, J. a McLaughlin, and E. T. McAdams, "Thin film platinum cuff electrodes for neurostimulation: in vitro approach of safe neurostimulation parameters.," *Bioelectrochemistry*, vol. 63, no. 1–2, pp. 359–64, Jun. 2004.
- 135 D. Malleo, J. T. Nevill, A. van Ooyen, U. Schnakenberg, L. P. Lee, and H. Morgan, "Characterization of electrode materials for dielectric spectroscopy.," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 81, no. 1, p. 016104, Jan. 2010.
- 136 E. M. Hudak, J. T. Mortimer, and H. B. Martin, "Platinum for neural stimulation : voltammetry considerations," *J. Neural Eng.*, vol. 7, 2010.
- 137 B. Yvert, C. Mazzocco, S. Joucla, A. Langla, P. Meyrand, "Artificial CSF motion ensures rhythmic activity in the developing CNS ex vivo : A mechanical source of rhythmogenesis?," *Journal of Neuroscience*, 31:8832-8840, 2011.
- 138 D. Miklavcic, N. Pavselj, and F. X. Hart, "Electric properties of tissues," *Wiley Encycl. Biomed. Eng.*, pp. 1–12, 2006.
- 139 D. A. Dean, T. Ramanathan, D. Machado, and R. Sundarajan, "Electrical impedance spectroscopy study of biological tissues," *J. Electrostat.*, vol. 66, pp. 165–177, 2008.
- 140 D. Holder, "Electrical Impedance Tomography: methods, history and applications", 2004.
- 141 J. G. Fujimoto, C. Pitris, S. A. Boppart, and M. E. Brezinski, "Optical Coherence Tomography : An Emerging Technology for Biomedical Imaging and Optical Biopsy 1," vol. 2, no. August 1999, pp. 9–25, 2000.

- 142 S. Shah, A. Hines, D. Zhou, R. J. Greenberg, M. S. Humayun, and J. D. Weiland, "Electrical properties of retinal-electrode interface," *J. Neural Eng.*, no. 4, pp. S24–S29, 2007.
- 143 A. Mercanzini, P. Colin, J.-C. Bensadoun, A. Bertsch, and P. Renaud, "In vivo electrical impedance spectroscopy of tissue reaction to microelectrode arrays", *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 56, no. 7, pp. 1909–18, Jul. 2009.
- 144 L. A. Geddes, L. E. Baker, "The specific resistance of biological material", *Med. & biol. Eng.*, Vol. 5, pp271-293, 1967.
- 145 http://www.utdallas.edu/news/2014/5/13-29981_New-Implanted-Devices-May-Reshape-Medicine_story-sidebar.html.
- 146 C. Hébert, J-P. Mazellier, E. Scorsonne, M. Mermoux, P. Bergonzo, "Boosting the electrochemical properties of diamond electrodes using nanotube scaffolds", *Carbon* 71, p.27-33, 2014.
- 147 C. Hébert et al., "Boron doped Diamond Biotechnology: from sensors to neurointerfaces", *Faraday Discussions 172 : carbon in Chemistry*, Royal Chemical Society, 2014.
- 148 C. Hébert, Thèse "Le diamant pour la bioélectronique : De la fonctionnalisation chimique à la modification physique par des nanotubes de carbone", soutenue en 2012.
- 149 J. C. Angus, Y. V Pleskov, C. Levy-clement, and S. Park, "Electrochemical Applications of Conductive Diamond Electrodes.", 2001.
- 150 P. Thevenot, W. Hu, L. Tang, "Surface chemistry influence implant biocompatibility", *Curr Top Med Chem.*, 8(4): 270–280, 2008.
- 151 T. V. Kumari et al., "Cell surface interactions in the study of biocompatibility", *Trends Biomater. Artif. Organs*, Vol. 15(2), pp 37-41, 2002.
- 152 A. Georgiev et al., "Chemical and physical properties of polyimides: biological and engineering applications", *Intech*, 2012.
- 153 S. Metz, A. Bertsch, P. Renaud, "Partial Release and detachment of microfabricated metal and polymer structures by anodic metal dissolution", *Journal of Microelectromechanical systems*, Vol. 14, n°2, april 2005.
- 154 D. C. Rodger et al., "Flexible circuit technologies for biomedical applications", *Intech* (<http://dx.doi.org/10.5772/55308>), 2013.
- 155 N. Majid, S. Dabral, J. F. McDonald, Parylene–aluminum multilayer interconnection system for wafer scale integration and wafer scale hybrid packaging, *Journal of electronic materials*, vol 18 issue 2, pp 301-311, 1989.
- 156 N. Yang, H. Uetsuka, E. Osawa, and C. E. Nebel, "Vertically aligned nanowires from boron-doped diamond." *Nano letters*, vol. 8, no. 11, pp. 3572–6, Nov. 2008.
- 157 D. a Wagenaar, J. Pine, and S. M. Potter, "Effective parameters for stimulation of dissociated cultures using multi-electrode arrays." *Journal of neuroscience methods*, vol. 138, no. 1–2, pp. 27–37, Sep. 2004.
- 158 M. Heim et al. : "Combined macro-/mesoporous microelectrode arrays for low-noise extracellular recording of neural networks." *Journal of neurophysiology*, vol. 108, no. 6, pp. 1793–803, Oct. 2012.
- 159 Fricke, H., *The Theory of Electrolytic Polarization*, *Philosophical Magazine*, Vol.7, pp. 310-318, 1932.
- 160 M. Cottance et al. : "Diamond micro-electrode arrays (MEAs): A new route for in-vitro applications", *Design, Test, Integration and Packaging of MEMS/MOEMS (DTIP)*, 2013 Symposium, pp.1,4, 16-18 April 2013.

- 161 C. Kittel : "Physique de l'état solide", 5ème édition, Dunod Université, p.167, 1983.
- 162 F. Gevrey, A. Gire, D. Gaudiot, J.-G. Théobald, E. Gheeraert, M. Bernard, and F. Torrealba-Anzola, "Conductivity and photoconductivity in boron doped diamond films: Microwave measurements," *J. Appl. Phys.*, vol. 90, no. 8, p. 4251, 2001.
- 163 http://hdmicrosystems.com/HDMicroSystems/en_US/pdf/PI-2600_ProcessGuide.pdf.
- 164 Bendali, A. *distinctive glial and neuronal interfacing onto nanocrystalline diamond*. 2013.
- 165 R. Hornig, T. Zehnder, M. Velikay-parel, T. Laube, M. Feucht, and G. Richard, "The IMI Retinal Implant System," pp. 111–128.
- 166 http://www.glsv-vc.com/downloads/Clinica_MedTech_Jan08_reprint.pdf.
- 167 David D. Zhou, Ph. D., Jessy D. Dorn , Ph. D., Robert J. Greenberg , M. D., Ph. D., "THE ARGUS ® II RETINAL PROSTHESIS SYSTEM : AN OVERVIEW Argus II Study Group."
- 168 Y. Hirukawa, S. Ono, and S. Syuichi, "Hydrophilization treatment of polyimide using Ar-O 2 mixtue gas surface wave plasma," pp. 7–10.
- 169 H. R. Coleman, C. Chan, F. L. F. Iii, and E. Y. Chew, "NIH Public Access," vol. 372, no. 9652, pp. 1835–1845, 2009.
- 170 A. Molins and A. Eisenman, "The Retinal Implant Project," pp. 1–12.
- 171 H. Chan, D. M. Aslam, J. Wiler, and B. Casey, "A novel diamond micro probe for neuro-chemical and electrical recording in neural prosthesis."
- 172 M. A. Prelas, G. Popovici, L. K. Bigelow, "Handbook of Industrial Diamonds and Diamond Films", Marcel Dekker Inc, New York, 1214, 1998.
- 173 J. E. Field, "The mechanical and strength properties of diamond", *Rep. Prog. Phys.* 75, 2012.
- 174 L. Demuynck et al., "Mechanisms of CVD diamond nucleation and growth on mechanically scratched and virgin Si(100) surfaces", *Diamond and Related Materials*, Vol. 6, Issues 2-4, p. 235-239, 1997.
- 175 M. R. Neuman, Biopotential Electrodes, *The Biomedical Engineering Handbook: Second Edition*, Ed. Joseph D. Bronzino, 2000.
- 176 S. Queste, G. Ulliac, J. Jeannot, and C. K. Malek, "DRIE of non-conventional materials : first results," *Multi-material Micro Manuf.*, pp. 2–5, 2008.
- 177 M. Schuettler, "Electrochemical Properties of Platinum Electrodes in vitro: comparison of six different surface qualities," *Proc. 29th Annu. Int. Conf. IEEE EMBS*, pp. 186–189, 2007.
- 178 M. Heim, B. Yvert, and A. Kuhn, "Nanostructuring strategies to enhance microelectrode array (MEA) performance for neuronal recording and stimulation.," *J. Physiol. Paris*, no. October, Oct. 2011.

Annexes

1. Procédé de fabrication des MEA diamant.	193
2. Procédé de fabrication des MEA fourchettes en silicium	194
3. Code Matlab pour l'électrodéposition du platine noir.....	195
4. Procédé de structuration d'une résine négative (KMPR).....	197
5. Le polyimide	198
6. Procédé de fabrication des implants rétiniens planaire en platine ou en or	199
7. Procédé de fabrication des implants plans en diamant.....	201
8. Procédé de fabrication d'implants rétiniens tridimensionnels avec des électrodes en métal.....	203
9. Le parylène	204

1. Procédé de fabrication des MEA diamant.

Tout d'abord, des nanoparticules de diamant sont déposées uniformément par centrifugation sur un substrat de silicium ou de verre. Ensuite un masque en aluminium est déposé par pulvérisation cathodique pour définir la forme des électrodes par lithographie. Les nanoparticules de diamant en dehors des zones protégées par le masquage sont gravées en utilisant un plasma d'oxygène en RIE. En effet, il est nécessaire de le structurer avant sa croissance car les nanoparticules de diamant sont gravées plus rapidement qu'un film de diamant. Le masque métallique est alors enlevé chimiquement, révélant les motifs en particules de diamant qui vont croître selon le procédé décrit au Chapitre 2 §2.1.2. Après croissance, les pistes métalliques Ti (50 nm)/ Pt (150 nm) déposées par sputtering (pulvérisation cathodique) et définies par lift-off (en utilisant la même méthode que pour les MEA en platine), prennent contact sur les électrodes en diamant. Une couche de nitrure de silicium (Si_3N_4) de 600 nm est déposée sur le substrat par PECVD (Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition) pour isoler les pistes métalliques du liquide physiologique. Une RIE au SF_6 par est effectuée pour graver localement le nitrure de silicium pour ouvrir les plots de contacts, les électrodes de diamant et aussi pour définir la taille effective des électrodes. Finalement, la résine utilisée pour graver sélectivement la couche de nitrure est enlevée et les MEA sont libérées et montées comme précédemment pour réaliser les tests électrochimiques puis biologiques.

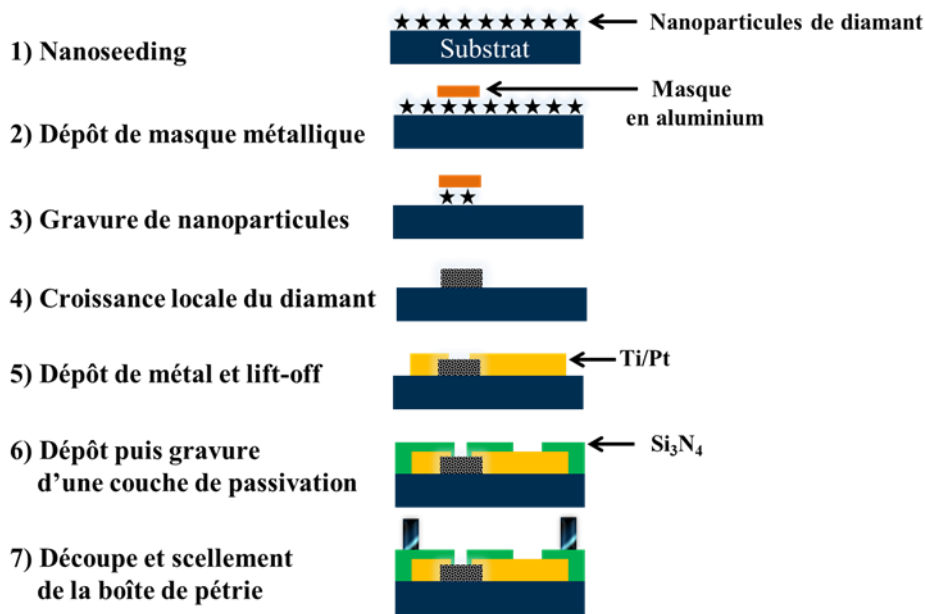


Figure 118 - procédé de fabrication de MEA diamant

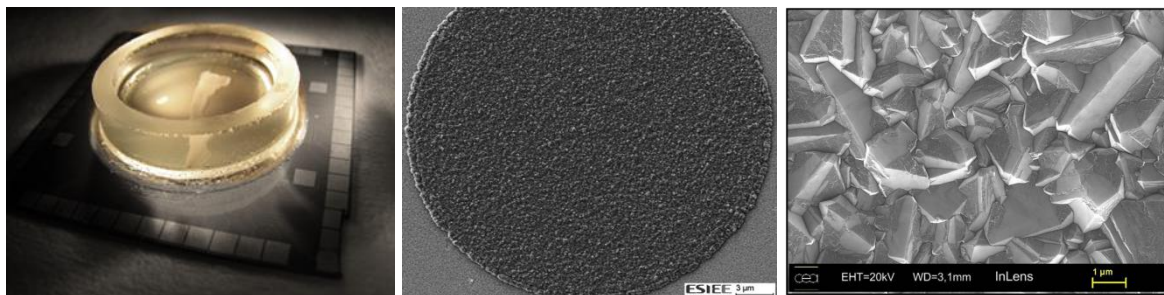


Figure 119 - MEA en diamant (de 4,4 cm de côté) avec une moelle épinière de souris (gauche), et électrode en diamant (milieu) avec un zoom sur la surface (droite)

2. Procédé de fabrication des MEA fourchettes en silicium

Les substrats SOI sont préalablement oxydés thermiquement pour éliminer toute conduction à la surface du substrat. La première étape consiste à déshydrater dans une étuve à 250°C pendant 15 min pour chasser toute trace d'eau. Une photolithographie est réalisée à l'aide de la résine nlof2020 pour définir les pistes métalliques, les électrodes et les plots de contact. Ensuite 50 nm de titane et 150 nm de platine sont déposés par sputtering (pulvérisation cathodique) et les structures sont obtenues par lift-off dans l'acétone. La deuxième étape est la passivation par une couche de nitrure de silicium de 600 nm par PECVD. Après, une photolithographie est réalisée avec la résine nlof2020 pour définir les ouvertures des électrodes et des plots de contact où dans la troisième étape, le nitrure de silicium est gravé par un plasma SF_6 . La quatrième étape est une autre photolithographie réalisée avec une résine semi-épaisse 3 µm de SIPR-7120 de Shin-Etsu, pour définir la masse et l'électrode de

référence. Une autre couche de Ti/Pt (50/150 nm) est déposée par sputtering et la masse et l'électrode de référence sont obtenues par lift-off dans de l'acétone. La dernière étape est la gravure du silicium. Pour cela, un masque en aluminium est déposé par sputtering sur la face arrière et une photolithographie avec une résine classique (1,1 μm de PFR 7790 de Microchemicals) permet de définir une petite fenêtre au niveau des pointes de la fourchette. L'aluminium est gravé par un plasma $\text{BCl}_3\text{-Cl}_2\text{-N}_2$ puis la face arrière est collée sur un film pour éviter de perdre et casser le substrat en cas de problème lors de la gravure face avant. Une autre photolithographie avec la résine épaisse (15 μm de AZ 4562 de chez Microchemicals) est réalisée pour définir la forme de la fourchette ainsi que les pointes. La face avant est gravée en DRIE et ensuite la face arrière pour libérer totalement les dents des fourchettes. Les fourchettes sont enfin découpées avec une scie munie d'une lame en diamant, nettoyées dans de l'acétone et prêtes à être caractérisées.

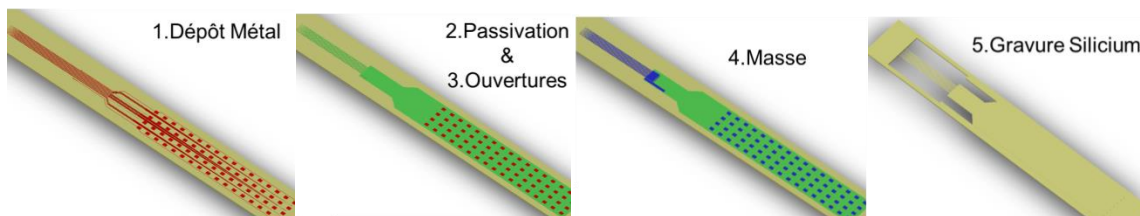


Figure 120 - Procédé de fabrication des fourchettes en silicium



Figure 121 – MEA fourchettes en silicium

3. Code Matlab pour l'électrodéposition du platine noir.

```
function [Zbefore,Zafter] = BlackPtNanoZ(I,duration,Zmin)
```

```
% BLACKPTNANOZ(I,DURATION,ZMIN) performs electroplating by injecting to each channel a fixed current I (in A) during DURATION (in seconds) if the original
```


impedance of the channel (measured at 1KHz) is greater than ZMIN (in Ohms). The function also plots the impedance of the electrodes before and after electroplating.

% [ZBEFORE,ZAFTER] = BlackPtNanoZ(...) returns two 3x60 matrices containing the values of impedance before and after electroplating at 1, 10 and 1000Hz.

% Last version: 28/03/2012

%Test du courant si négatif
if (I<0)

% INITIALIZATION
% Get a list of the devices
devices = nanoz('enumdevs');

% Open access to the first one
hdev = nanoz('open',devices{1},64);

% Get waveform capabilities and prepare waveform (see NanoZ manual)
wfcaps = nanoz('getwaveformcaps',hdev);
fs = wfcaps.fs_adc;
[wfraw,ach_current] = nanoz('preparewaveform',hdev,I(1));

% Parameters of impedance measure (see NanoZ manual)
imped_nbcycles = 3;
imped_nbdsp = 3;
imped_nbassays = 3;
fmeasure = [10 100 1000]; % frequencies at which impedance will be measured

% Duration of plating per electrode
nbsamples = round(duration*fs);

% Initialize impedance variables
Ztemp = [];
Zbefore = NaN*zeros(length(fmeasure),60);
Zafter = NaN*zeros(length(fmeasure),60);

% Create figure to plot impedance
figure;
hAx1 = subplot(1,2,1);
hold on
hAx2 = subplot(1,2,2);
hold on

% ELECTROPLATING 64 toutes les électrodes
for i = 1:64
% For electroplating of Ayanda MEAs, channels 33, 34, 57 and 58 of
% nanoZ are not connected to an electrode
% if isempty(intersect(i,[33 34 57 58]))
% Select active channel
nanoz('selectchannel',hdev,i);
pause(0.5);

```

% Affiche le numéro de l'électrode
i

% Measure original impedance
for j = 1:length(fmeasure)
    fmeasure(j) = nanoz('setfreq',hdev,fmeasure(j));
    [signaldata,impedance]=
impedance_loop(hdev,1/fmeasure(j)*imped_nbcycles*fs,imped_nbdsp,imped_nbassays);
    Ztemp(j,:) = abs(impedance);
end
Zbefore(:,i) = mean(Ztemp,2); % average over assays
scatter(hAx1,i,Zbefore(3,i)); % plot original impedance @1KHz

% Proceed to electroplating if impedance is higher than ZMIN
if Zbefore(3,i) > Zmin
    % Electroplating ("plating_loop" is a script provided with the
    % nanoZ, see the code for more details)
    V = plating_loop(hdev,wfraw,1,nbsamples);
    pause(1);

    % Measure new impedance
    for j = 1:length(fmeasure)
        fmeasure(j) = nanoz('setfreq',hdev,fmeasure(j));
        [signaldata,impedance]=
impedance_loop(hdev,1/fmeasure(j)*imped_nbcycles*fs,imped_nbdsp,imped_nbassays);
        Ztemp(j,:) = abs(impedance);
    end
    Zafter(:,i) = mean(Ztemp,2);
else
    Zafter(:,i) = Zbefore(:,i);
end

scatter(hAx2,i,Zafter(3,i)); % plot new impedance @1KHz
% end % fin du if d'exception des électrodes 33 34 57 58
end

% Close device
nanoz('close',hdev);
end % fin du test si courant négatif

```

4. Procédé de structuration d'une résine négative (KMPPR)

Les étapes de structuration de la résine sont regroupées dans le Tableau 22. Les substrats en fused silica sont nettoyés pendant 20 minutes dans une solution de Nanostrip (mélange d'acide sulfurique et de peroxyde d'hydrogène) à 60°C. Ensuite 5000 Å de silicium amorphe

est déposé par PECVD¹⁸ avec la machine GSI pendant 1h. Les substrats sont alors déshydratés sur plaque chauffante ou au four à 180°C pendant 15 min avant de structurer la résine KMPR. La résine KMPR est étalée, recuite puis insolée avec une machine de photolithographie optique par projection (Autostepper GCA AS2000), recuite et enfin développée.

Etape	Matériel	Conditions	Temps	
1	Nettoyage	Fused silica wafer	Nanostrip tank à 60°C	20 min
2	PECVD	GSI PECVD	Silicium amorphe (5000 Å)	1h
3	Déshydratation	a-Si/FS wafer	Plaque chauffante ou four à 180°C	15 min
4	Enrésinement de KMPR	ACS 200 Cluster Tool	Vitesse : 1500 rpm Accélération : 300 rpm/s	30 s 30 s
5	Recuit	ACS 200 Cluster Tool	Four à 100°C	7 min
6	Insolation	GCA AS200 AutoStepper	Focus : -5	1,6 s
7	Recuit après insolation	ACS 200 Cluster Tool	Four à 100°C	4 min
8	Développement	AZ 300 MIF	Bécher, légère agitation	6 min

Tableau 22 - Etapes de la photolithographie avec la résine KMPR

5. Le polyimide

Généralité: sa structure et sa synthèse

Les précurseurs solubles du PI appelés acides polyamiques sont convertis en PI insolubles sous forme solide par déshydratation et formation d'un cycle imide (Figure 122) qui requiert une température entre 250 et 350°C [152].

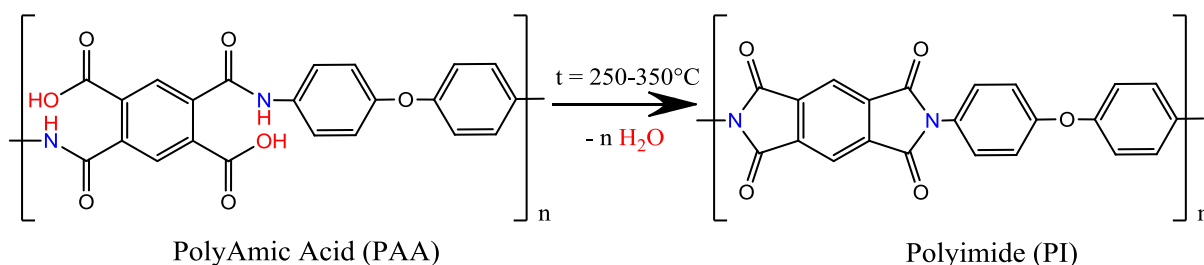


Figure 122 – Structure et synthèse du polyimide

¹⁸ Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition ou dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma

Procédé de réalisation d'un film de PI

i) Le promoteur d'adhérence VM 651 (HD Microsystems)

Le promoteur d'adhérence comme son nom l'indique, permet d'améliorer l'adhésion du PI sur le substrat. Il est déposé par centrifugation et recuit sur plaque chauffante à 110°C pendant 3 min.

ii) Le polyimide 2611 (HD Microsystems)

Le PI est ensuite déposé également par centrifugation et recuit partiellement sur plaque chauffante à 110°C pendant 2 min.

iii) Recuit du PI

Le PI est totalement recuit dans un four sous atmosphère d'azote selon un cycle de température allant jusqu'à 350°C :

- Elévation de la température (3°C/min) jusqu'à 350°C,
- Stabilisation de la température à 350°C pendant 1h
- Diminution de la température (<10°C/min) jusqu'à la température ambiante

Ce procédé de recuit dure environ 6h en tenant compte du temps de refroidissement.

6. Procédé de fabrication des implants rétiniens planaire en platine ou en or

Une couche de 100 nm de titane et de 500 nm d'aluminium est déposée par pulvérisation cathodique sur un substrat en silicium. Ces couches permettront en fin de procédé de libérer les implants par dissolution anodique du métal [153].

Une première couche de polyimide d'environ 10 µm est déposée selon le procédé décrit en annexe p. 198.

Pour des implants en platine, une photolithographie est réalisée avec une résine négative (2µm de Nolf2020) pour définir les pistes, électrodes et plots de contact. Puis un dépôt de quelques nanomètres de titane et de 150 nm de platine est effectué par pulvérisation cathodique sur le substrat. Par un procédé de lift-off, les pistes, électrodes et plots de contacts sont définis.

Pour des implants en or, une couche de 30 nm de titane tungstène (TiW), suivie d'une couche Au de 500 nm et enfin d'une couche TiW de 30 nm sont déposées par pulvérisation cathodique. La couche de TiW offre une meilleure adhésion entre le polymère et le métal et sert de couche d'arrêt lors de la gravure du polyimide afin de ne pas surgraver la couche d'or. Pour améliorer l'adhésion avant les dépôts de métaux, un rétro-sput sous argon est effectué sur le polyimide pour créer une certaine rugosité. Une photolithographie est réalisée avec la résine positive AZ 4562 (6 µm) pour définir les pistes, la grille et les plots de contact. Les couches TiW sont gravées dans une solution d'eau oxygénée sous agitation et la couche d'or dans une solution d'attaque chimique commerciale de Microchemicals. La résine est ensuite retirée dans un bain d'acétone, révélant les pistes, la grille et les plots de contact métalliques.

Une fois le dépôt de métal (or ou platine) réalisé, les plaquettes sont déshydratées sur plaques chauffantes à 110°C pendant 15 min avant étalement d'une autre couche de polyimide puis recuit de celle-ci. Les plaquettes sont ensuite déshydratées sur plaques chauffantes à 110°C pendant 15 min avant d'effectuer une photolithographie avec une résine négative épaisse, l'AZ 125 nxt de MicroChemicals, atteignant une épaisseur de 24 µm afin de délimiter les électrodes, la grille de masse et les plots de contact à graver. Cette résine qui est assez stable et épaisse supporte bien les conditions de gravure. Cette gravure sèche sous atmosphère d'oxygène et d'argon permet de graver le polyimide.

Après la gravure la résine est retirée dans un bain d'acétone. L'aluminium est ensuite gravé par un plasma chloré et le polyimide est gravé par un plasma oxygène en RIE. Une fois la gravure du polyimide terminée, le masque en aluminium est gravé par voie humide.

Une deuxième gravure du polyimide est réalisée pour avoir la forme des implants : pour cela, un masque en aluminium est déposé par pulvérisation cathodique et une photolithographie définit la zone qui sera gravé en RIE. Après la gravure RIE, l'aluminium est enlevé par gravure par voie humide. Une photolithographie définissant la forme des implants est réalisée avec une résine épaisse de 6 µm, l'AZ 4562, pour protéger les électrodes pendant la libération. Les implants sont libérés par dissolution anodique de l'aluminium [153] et rincés avec de l'acétone, de l'éthanol puis de l'eau dé-ionisée.

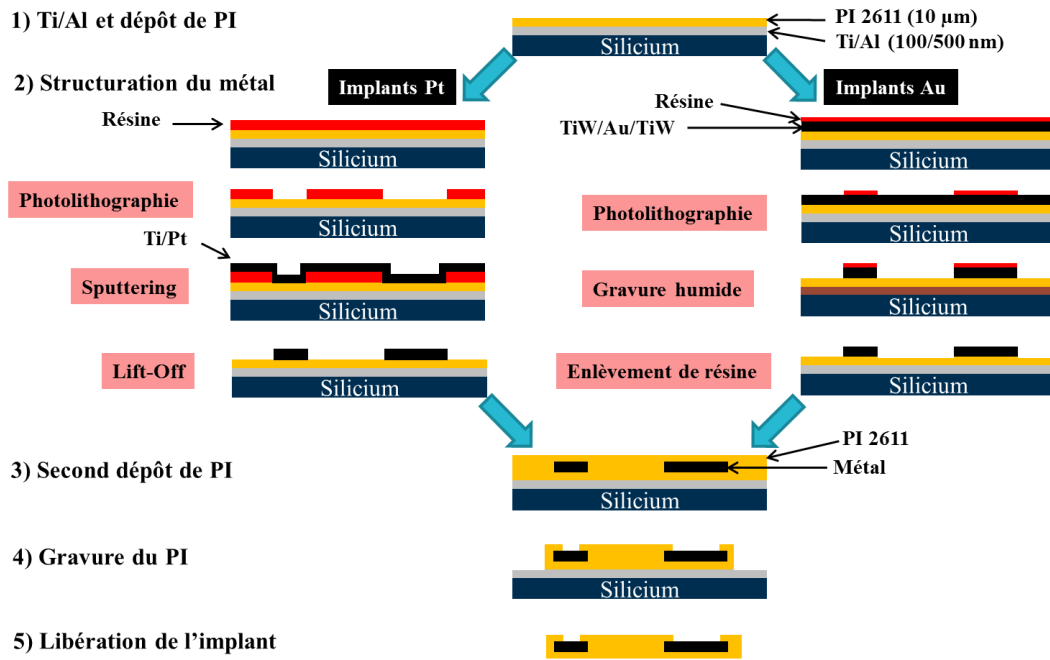


Figure 123 - Procédé de fabrication d'implants rétinien planaire en platine ou en or

7. Procédé de fabrication des implants planaires en diamant

La première étape consiste à oxyder thermiquement les plaquettes de silicium à 1373 K (1100°C) en présence d'oxygène et de vapeur d'eau pour former une couche épaisse de 1,5 μm dioxyde thermique de silicium qui servira de couche d'arrêt lors de la gravure du substrat pour libérer les implants. Puis les plaquettes sont envoyées au CEA où sont étalées pleine plaque par spin coating des nanoparticules de diamant en suspension dans une solution d'eau dé-ionisée et d'alcool polyvinylique. Ces nanoparticules subissent ensuite une brève croissance (5-10 min) pour fixer les nanoparticules sur le substrat.

Les plaquettes nous sont retournées après afin que la forme des électrodes soit définie. Pour cela, 500 nm d'aluminium est déposé par sputtering et une photolithographie est réalisée avec une fine résine, la PFR 7790, permettant de délimiter les motifs d'électrodes en aluminium à graver par un plasma chloré. La résine est enlevée et les nanoparticules de diamant qui ne sont pas protégées par l'aluminium sont gravées par un plasma d'oxygène et d'argon. Cela afin d'éviter toute nucléation indésirable des nanoparticules de diamant durant la croissance.

Les plaquettes sont renvoyées au CEA où l'aluminium est gravé par voie humide pour révéler en dessous les nanoparticules de diamant qui servent à la croissance dans le réacteur

pour former une couche de 300 nm d'épaisseur de diamant. De retour à l'ESIEE, les plaquettes sont déshydratées à 250°C dans une étuve pour enlever toute trace d'humidité ce qui permet une meilleure adhérence des futures couches.

Le promoteur d'adhérence VM 651 puis le polyimide 2611 de HD Microsystems sont déposés par spin coating puis recuit. L'épaisseur de la couche de polyimide obtenue est d'environ 10 µm. Les plaquettes sont ensuite déshydratées sur plaques chauffantes à 110°C pendant 15 min avant d'effectuer une photolithographie avec une résine négative épaisse, l'AZ 125 nxt de MicroChemicals, atteignant une épaisseur de 24 µm afin de délimiter les électrodes, la grille de masse et les plots de contact à graver. Cette gravure sèche sous atmosphère d'oxygène et d'argon permet de graver le polyimide. Après la gravure, la résine est retirée dans un bain d'acétone.

L'étape suivante est de dépôt d'une couche métallique comme précédemment pour reprendre le contact avec l'électrode en diamant et créer les pistes, la grille de masse et les plots de contact. Les plaquettes sont déshydratées sur plaques chauffantes à 110°C pendant 15 min avant étalement d'une autre couche de polyimide puis recuit de celle-ci. Un masque en aluminium est déposé par sputtering avec au préalable un rétro-sput sous argon pour améliorer l'adhérence du métal au polyimide. Une photolithographie est effectuée avec la résine Shinetsu-13 pour définir la forme de l'implant. L'aluminium est ensuite gravé par un plasma chloré et le polyimide est gravé par un plasma oxygène et argon en RIE. Une fois la gravure du polyimide terminée, le masque en aluminium est gravé par voie humide.

Les implants sont alors libérés par gravure du substrat en face arrière. Pour cela, un masque en aluminium est déposé par sputtering en face arrière et une photolithographie définit la zone qui sera gravée en RIE. La face avant est protégée par une couche de résine recouverte d'un film de découpe pour qu'à la fin de la gravure du silicium et de l'oxyde thermique, les implants soient retenus par cette couche de résine (cf. Figure 125). Les implants sont enfin récupérés en dissolvant la résine dans l'acétone.

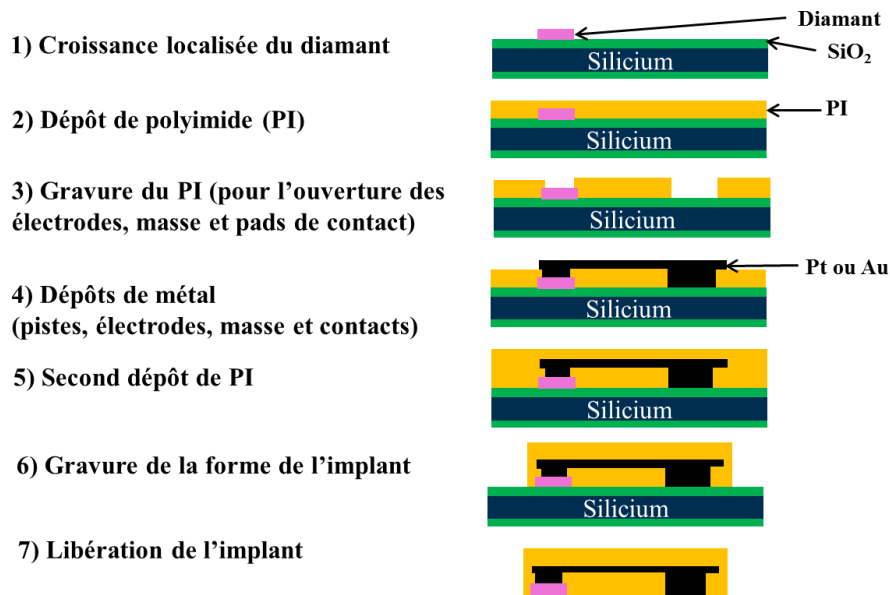


Figure 124 - Procédé de fabrication d'implant rétinien planaire en diamant.

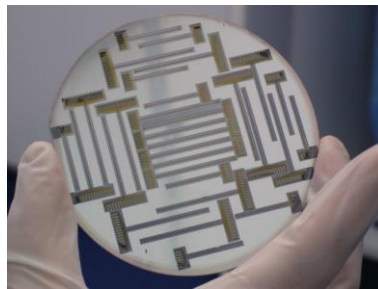


Figure 125 - Substrat gravé en face arrière

8. Procédé de fabrication d'implants rétinien tridimensionnels avec des électrodes en métal.

Après la fabrication du moule, une couche de polyimide est déposée et gravée à travers une résine négative épaisse (25 μm AZ 125 nxt de MicroChemicals) par plasma RIE pour créer l'ouverture de la masse, des électrodes et des plots de contact où des couches de Ti/Pt/Ti (30nm/150nm/30nm) sont déposées par pulvérisation cathodique et structurées ou bien une couche d'or TiW/Au/TiW (30nm/500nm/30nm) est définie par un procédé de lift-off. Une seconde couche de polyimide est déposée et gravée pour définir la forme générale de l'implant. Les implants sont finalement libérés en gravant le substrat de silicium comme pour l'implant avec des électrodes en diamant.

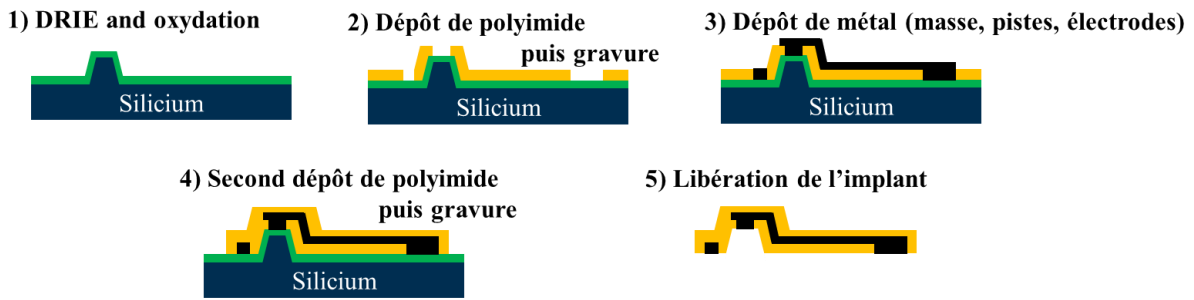


Figure 126 – Procédé de fabrication d'implants 3D avec des électrodes en métal.

9. Le parylène

Le principe du dépôt de parylène est représenté sur la Figure 127. Le parylène à l'état brut est un dimère solide (a) qui chauffé à environ 150°C, se change en phase vapeur (étape 1) et diffuse dans la chambre de pyrolyse à 670°C où il se dissocie en monomère (étape 2). Celui-ci se répand vers l'enceinte à température ambiante et se condense pour donner un film de parylène (étape 3). Avant d'être pompé, les résidus de monomères sont piégés dans un dispositif cryogénique. Le système fonctionne sous un vide primaire (quelques μbar). [154]

L'épaisseur de la couche de parylène dépend de la quantité de parylène solide chargée dans le sas de vaporisation.

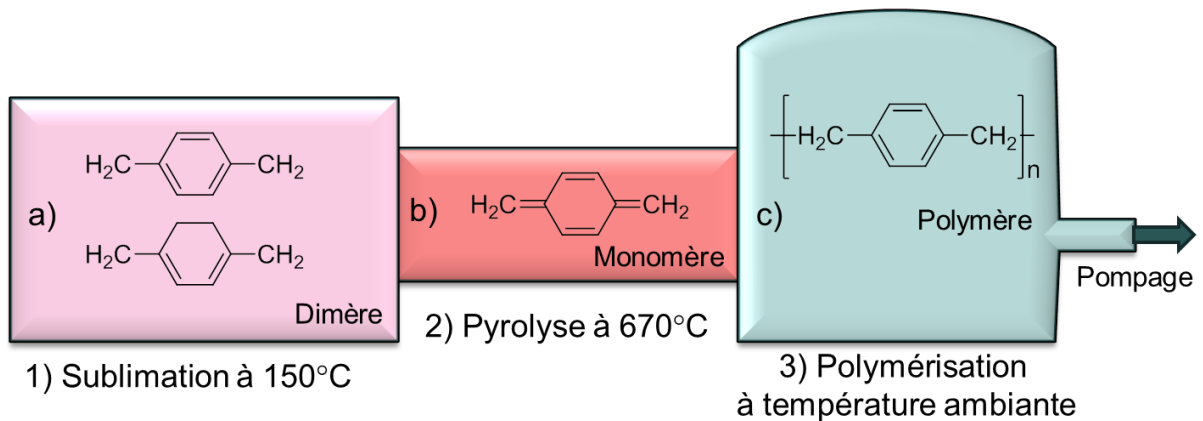


Figure 127 - Principe de dépôt du parylène

Contribution au développement d'interfaces neuro-électroniques

Résumé

Les travaux menés au cours de cette thèse portent sur la microfabrication d'interfaces neuro-électroniques pour des applications en neurosciences. Nous avons choisi de nous focaliser sur la réhabilitation fonctionnelle motrice et sensorielle en développant différentes matrices de micro-électrodes (MEA) respectivement, des sondes neuronales rigides et des implants rétiniens souples. Selon les applications visées, deux types de substrats ont été utilisés pour concevoir ces MEA. Pour des analyses ou expériences in-vitro, les MEA (sondes neuronales) ont plutôt été réalisées sur des substrats rigides tels que le silicium ou le verre, tandis que pour les expériences in-vivo, les MEA (implants rétiniens) ont été réalisées sur des substrats souples tels que des polymères biocompatibles (polyimide, parylène). Ces MEA ont été fabriquées avec différents matériaux d'électrodes (diamant dopé, platine, platine noir et or) qui ont également été testés afin de déterminer leur capacité en enregistrement et/ou stimulation. De plus, à l'aide de travaux de modélisation numérique, nous avons validé le concept d'une géométrie tridimensionnelle avec grille de masse permettant une stimulation plus focale des cellules.

Cette thèse a ainsi contribué à stabiliser différents procédés de fabrication pour obtenir des MEA plus reproductibles ainsi que pour améliorer leur rendement. Elle a également permis d'établir un suivi et un protocole expérimental pour assurer une traçabilité des MEA et contrôler leur performances à toutes les étapes : depuis leur fabrication au moyen de techniques électrochimiques (CV, EIS) jusqu'aux expériences biologiques in-vitro et in-vivo.

Mots clés : biocompatibilité, diamant, électrochimie, MEA, microfabrication, microélectrodes, prothèses neuronales, stimulation focale.

Abstract

The work lead during this thesis deals with microfabrication of neuro-electronic interfaces for neuroscience applications. We have chosen to focus on motor and sensory function rehabilitations by developing Micro-Electrode Arrays (MEA) respectively, rigid neural probes and flexible retinal implants. According to the targeted applications, two types of substrates have been used to achieve these MEA. For analysis or in-vitro experiments, neural probes MEA have been realized on rigid substrates such as silicon or glass whereas for in-vivo experiments, retinal implants MEA have been realized on flexible substrates such as biocompatible polymers (polyimide or parylene). These MEA were made with different electrode materials (boron doped diamond, platinum, black platinum and gold) which have been tested to determine their capability in recording and/or stimulation. Moreover, with numerical modelling work, we have validated a tridimensional geometry concept with a ground grid which permits a more local stimulation of cells.

This thesis has contributed to stabilize different fabrication processes to obtain more repeatable MEA and also to improve their yield. It also allowed the set-up of a follow-up and an experimental protocol to insure MEA traceability and to monitor their performances at each step since their fabrication through means of electrochemical techniques (CV, EIS) to in-vitro and in-vivo biological experiments.

Keywords: biocompatibility, diamond, electrochemistry, MEA, microfabrication, microelectrodes, neural prosthesis, local stimulation.