



**UNIVERSITATEA POLITEHNICA
DIN BUCUREȘTI**



**Școala Doctorală de Electronică, Telecomunicații
și Tehnologia Informației**

Decizie nr. 1012 din 11.04.2023

REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

Ing. Alexandru TOPOR

**Dispozitive Electronice Mobile și Software Integrat
pentru Aplicații Biomedicale**

**Mobile Electronic Devices and Integrated Software for
Biomedical Applications**

COMISIA DE DOCTORAT

Prof. Dr. Ing. Mihai Ciuc Univ. Politehnica din București	Președinte
Prof. Dr. Ing. Cristian Ravariu Univ. Politehnica din București	Conducător de doctorat
Prof. Dr. Ing. Florin Babarada Univ. Politehnica din București	Referent
Prof. Dr. Ing. Vasile Stoicu-Tivadar Univ. Politehnica Timișoara	Referent
CS I. Prof. Dr. ing. mat. Adriana Alexandru Institutul de Cercetare-Dezvoltare in Informatica ICI București	Referent

BUCUREȘTI 2023

Cuprins

1. Introducere	3
1.1. Prezentarea domeniului tezei de doctorat	3
1.2. Scopul tezei de doctorat	4
1.3. Conținutul tezei de doctorat	5
2. Conceptul unui sistem electronic mobil cu software integrat pentru detecția meningitei bacteriene	7
2.1. Realizarea dispozitivului mobil de diagnosticare a meningitei bacteriene	7
2.2. Optimizarea modelului funcțional pentru detecția de citokine pe substrat solid	12
3. Realizarea modelului experimental pentru un dispozitiv mobil de diagnosticare a bolilor tropicale	16
3.1. Studiu cu privire la bolile tropicale	16
3.2. Analiza datelor colectate	16
3.3. Prototip de instrumentație portabilă pentru detecția bolilor tropicale	17
3.4. Optimizarea algoritmilor Matlab pentru caracterizarea frecvențelor detectate	17
3.5. Concluzii	19
4. Utilizarea procesării de imagini pentru reconstrucție oculară	20
4.1. Realizarea modelului experimental al unui implant ocular prin tehnica 3D bioprinting	20
4.2. Procesarea imaginilor DICOM	20
4.3. Realizarea și exploatarea modelului experimental	21
5. Măsurători de precizie a micropensetelor biomedicale	22
5.1. Caracterizarea și măsurarea deschiderii micropensetelor de tip MEMS pentru aplicații biomedicale	22
5.2. Dezvoltări ale tehnicii de tracking în timp real	22
6. Concluzii	26
6.1. Rezultate obținute	26
6.2. Contribuții originale	27
6.3. Lista lucrărilor originale	28
6.4. Perspective de dezvoltare ulterioară	31
7. Bibliografie	32

Capitolul 1

Introducere

Lucrarea prezintă demonstrează aplicarea unor metode din starea artei în domeniul de procesare de imagini și de semnale, alături de optimizări specifice ale acestora, în scenarii de utilizare complet noi pentru aplicații biomedicale ambițioase de diagnosticare rapidă a meningitei bacteriene și a bolilor tropicale, reconstrucție oculară și manipulare celulară cu micropensete, proiectele de cercetare în care am fost implicat.

Astfel, o serie de realizări practice care au implicat dezvoltări hardware și software au fost incluse în prezenta lucrare. Autorul a dezvoltat software care integrează metodele disponibile în literatura, a reușit adaptarea acestora pentru scopurile propuse în fiecare proiect de cercetare, a efectuat optimizări specifice și a indicat alegerea combinațiilor, algoritmilor și parametrilor potriviți, măsurând sensibilitatea, specificitatea, acuratețea și alte proprietăți de interes pentru prototipurile propuse.

Acestea au fost comparate cu rezultatele obținute de alți autori sau de alți parteneri din consorțiile proiectelor, indicând rezultate cel puțin similare sau chiar îmbunătățite pentru metricile de interes.

1.1 Prezentarea domeniului tezei de doctorat

Necesitatea creșterii calității vieții la nivel global a rezultat în definirea unor obiective strategice ale Organizației Națiunilor Unite care acoperă domenii diverse de la educație până la sănătate și protecția mediului înconjurător. Asigurarea sănătății populației globale implică, printre altele, aspecte legate de prevenție, diagnosticare rapidă, tratament, și urmărirea îndelungată a supraviețuitorilor. Utilizarea tehnologiilor moderne a permis îmbunătățirea tuturor aspectelor prezentate, și astfel a luat naștere un fenomen global de cercetare-dezvoltare în domeniul biomedical. Din ce în ce mai multe dispozitive de diagnosticare rapidă, de tip point-of-care, au fost dezvoltate pentru boli diverse și pentru localizări geografice unde anumite tehnologii cu costuri ridicate nu sunt disponibile. Având în vedere creșterea puterii de calcul și versatilitatea electronicii în epoca contemporană, este natural să se caute metode cât mai aproape de pacient pentru diagnosticare, tratament, și cât mai utile pentru producătorii de tratamente pentru a putea deservi în mod eficient și la costuri reduse cererea globală. De asemenea, dispozitive de manipulare a materialelor biologice, de producție modernă prin tehnici de Computer-Aided-Design (CAD) și Computer-Aided-Manufacturing (CAM) au penetrat de asemenea în sfera medicală, fiind un adevărat adjuvant, împreună cu puterea tehnologiilor 3D Printing, în a deservi necesități specifice din domeniul biomedical. Evoluția în materie de senzori și diverse metode de a marca anticorpi specifici și alți identificatori specifici pentru diagnosticare, au deschis o poartă spre dezvoltarea de dispozitive integrate. De la senzori de gaze până la camere de luat vederi cu rezoluție înaltă, toate pot beneficia de puterea de calcul a computerelor și dispozitivelor mobile moderne. Aici facem referire la conceptele legate de procesare de semnale, procesare

de imagini, aplicarea tehnicilor de reconstrucție, implementarea în procese de manufacturare a elementelor din CAD/CAM și utilizând materiale cu biocompatibilitate ridicată în procese de printare 3D, toate sunt elemente care au devenit componente importantă ale spectrului mai larg acoperit de domeniul biomedical.

Societatea actuală traversează o tehnologizare intensă, iar procesul actual de globalizare favorizează colectarea și procesarea datelor, pe fondul creșterii anvergurii sistemelor de senzori și puterii de procesare a dispozitivelor desktop și mobile. În acest sens, s-au întreprins numeroase inițiative de către cercetătorii din zilele noastre, dar și de instituțiile responsabile cu asigurarea sănătății globale.

Utilizarea tehnologiilor moderne pentru aplicații biomedicale a reprezentat, reprezintă și va reprezenta un pilon important atât la nivel guvernamental, European, cât și mondial. Astfel, s-au finanțat multiple proiecte care au demonstrat prin calitatea depunerilor, ca pot rezolva probleme reale într-un mod inedit folosind cele mai recente descoperiri în diverse domenii. Unificarea acestor descoperiri necesită acoperirea multidisciplinară și cunoștințe în domenii multiple: biologie, chimie, fizică, matematică, electronică, procesare de semnale, programare, dispozitive hardware și software, știința materialelor. Consorțiile de cercetători din domeniile menționate (și nu numai) au reușit dezvoltarea la nivel de prototip și chiar de produse comercializabile, care au contribuit masiv la atingerea scopului de a asigura sănătatea populației globale. Ca parte din aceste proiecte, am fost privilegiat să contribui și eu la acest scop nobil.

Astfel, proiectele prezentate în capitolele ce urmează au urmărit utilizarea tehnicilor moderne de procesare de imagini și de semnale cu software dedicat, pornind de la parametrii hardware-ului de achiziție cu optimizarea acestora (LED-uri și lentile pentru evidențierea fluorescenței și focalizare optică, camere foto-video CCD cu sau fără HDR, senzori de gaze), sau, în alte cazuri, ale hardware-ului de manufacturare și pentru măsurători de precizie (mașini de imprimare 3D de tip Bioscaffolder, micropensete biomedicale). De asemenea, pornind de la problematica specifică fiecărui proiect biomedical, s-a urmărit optimizarea parametrilor colectați (determinarea concentrațiilor optime pentru exploatarea fluorescenței în scop de diagnosticare, determinarea parametrilor optimi pentru obținerea biocompatibilității în scopul implanturilor oculare moderne), și atingerea unor rezultate similare de acuratețe (rata rezultatelor fals-negative/fals-pozitive pentru aplicațiile de diagnosticare, deviația standard a erorilor de măsurare în cazul micropensetelor biomedicale) cu cele obținute în literatură în alte problematice abordate.

1.2 Scopul tezei de doctorat

Prezenta lucrare își propune elaborarea rezultatelor pe care le-am avut în cadrul diverselor proiecte de cercetare în care am fost implicat, toate gravitând în jurul domeniului biomedical, și fiind compilate sub egida care reprezintă și titlul lucrării. Având în vedere direcția indicată, în cadrul actualei lucrări sunt prezentate diverse metode de identificare de biomarkeri specifici, metode de procesare de imagini și de

semnale, integrarea acestora fie în dispozitive mobile sau în dispozitive moderne de tip desktop, dispozitive pentru printare 3D, sau dispozitive dezvoltate în scopuri specifice, cum ar fi manipularea materialelor biologice, hardware complementar de integrat în dispozitive de tip point-of-care pentru obținerea și îmbunătățirea semnalelor obținute, măsurători și algoritmi de inteligență artificială de clasificare în scopul diagnosticării rapide cu sensibilitate și specificitate ridicate. Astfel, o serie de realizări practice care au implicat dezvoltări hardware și software au fost incluse în prezenta lucrare, toate gravitând în jurul subiectului abordat.

1.3 Conținutul tezei de doctorat

În **capitolul I** sunt introduse noțiuni generale, referitoare la tehnici de procesare de imagini cu aplicații în domeniul biomedical. Sunt vizate în acest scop, elemente specifice **algoritmilor de procesare și formatelor utilizate în mod comun pentru datele medicale**. De asemenea, sunt prezentate și **filtre utilizate în mod comun în diverse aplicații biomedicale**, o altă componentă importantă a procesărilor efectuate, care stau la baza îmbunătățirii calității rezultatelor și **optimizării raportului de semnal/zgomot**. O atenție deosebită se acordă **metodelor de creștere a rezoluției semnalului optic din emisia fluorescentă**, aceste elemente reprezentând bazele dezvoltării dispozitivului mobil în conceptul prezentat în Capitolul II.

În **capitolul II** este prezentat conceptul unui sistem electronic mobil cu software integrat pentru detecția meningitei bacteriene. Acest sistem încorporează **dispozitivul hardware pentru emisie și generarea fluorescenței**, care este atașabil sistemului de captare utilizând **camera telefoanelor mobile convenționale**. **Procesarea imaginilor** colectate utilizând diverse mostre este inițial validată într-o **aplicație software desktop** dezvoltată în **MATLAB**. Se prezintă ulterior metode de optimizare a modelului funcțional pentru detecția de citokine pe substrat solid, prin diferite metode, care rezultă în validarea parametrilor optimi pentru exploatarea fluorescenței și îmbunătățirea specificității și sensibilității sistemului, rezultând într-o capacitate de diagnosticare superioară. Diverse simulări, inclusiv o simulare de tip **Monte-Carlo** sunt efectuate în scopul de a optimiza modelul funcțional. Rezultatele acestor simulări și parametrii optimizați sunt apoi integrați într-o **aplicație mobilă** capabilă să calculeze **curba logistică** rezultată, permițând astfel dispozitivul mobil prototipat să decidă dacă proba biologică supusă testării conține citokinele specifice unei meningite bacteriene.

În **capitolul III** se pune accentul pe o procesare de semnale diferită, provenind de la senzori de gaze, în scopul **diagnosticării bolilor tropicale** prin exploatarea compușilor organici volatili specifici prezenți în gazele expirate de pacient, și prin **algoritmi de caracterizare și clasificare a datelor**. O analiză a celor mai comune boli tropicale și impactul acestora în diferite țări este prezentată, împreună cu necesitatea dezvoltării unei metode neinvazive, mobile, cu costuri scăzute, pentru diagnosticarea acestora, un veritabil **nas electronic**. Colectarea și procesarea datelor de la diverși senzori de gaze

și spectrul semnalului obținut prin **transformare Fourier** sunt optimizate pentru a facilita utilizarea sistemului în timp real pe volume mari de date obținute prin intermediul LabView. Aceste optimizări sunt făcute în **MATLAB** care este limbajul de programare ales pentru aceasta procesare. Metoda **Discriminant Function Analysis (DFA)** este utilizată cu succes pentru clasificare, completând conceptul unui **nas electronic** pentru diagnosticarea bolilor tropicale.

În **capitolul IV** sunt adresate aspecte conexe legate de utilizarea procesării de imagini pentru reconstrucție oculară. În prima parte, este adresat un mod inovativ din categoria **reconstrucției digitale**, care permite personalizarea implanturilor oculare pentru fiecare pacient în parte. Procesarea este semi-automată și permite producerea unui model teselizat gata de introdus în mașinile de **printare 3D**. Configurația mașinii de printare pentru a obține structura cu porozitatea necesară, împreună cu utilizarea materialelor dezvoltate în mod special pentru o viteză ridicată de proliferare a țesuturilor, sunt prezentate, împreună cu prototipul rezultat pornind de la imagini obținute prin **tomografie computerizată (CT)**.

În **capitolul V** sunt prezentate contribuțiile personale ale autorului prezentei teze cu privire la alt subiect, și anume extragerea unei imagini clare, la scală micrometrică, dintr-o imagine cu zgomot de fond pentru o metodă de caracterizare a deschiderii micro-pensetelor robotice utilizate în aplicații biomedicale. Această metodă non-contact utilizează **algoritmi de urmărire în timp real (tracking Lucas-Kanade)** și permite caracterizarea distanței de deschidere a gripperului în funcție de tensiunea electrică aplicată.

În **ultimul capitol**, sunt prezentate **concluziile** globale ale acestei lucrări și apoi sunt puse în evidență contribuțiile originale aduse de autor la fiecare capitol, alături de lista publicațiilor autorului pe parcursul stagiului doctoral, finalizând cu câteva aspecte de interes a fi utilizate în **cercetări ulterioare**.

Capitolul 2

Conceptul unui sistem electronic mobil cu software integrat pentru detecția meningitei bacteriene

2.1 Realizarea dispozitivului mobil de diagnosticare a meningitei bacteriene

2.1.1 Realizarea dispozitivului mobil de captare a imaginilor cu ajutorul telefonului

În cadrul proiectului MEDICY [W1], echipa din care am făcut și eu parte din partea Universității Politehnica din București și echipa de cercetători de la Institutul Cantacuzino au realizat un senzor de identificare a elementelor fluorescente de pe un frotiu, conținând proba prelevată din lichidul cefalo-rahidian. Elementul receptor al biosenzorului consta din Anticorpi imobilizați pe frotiu, sensibili la citokinele ce se eliberează în corpul unui pacient, dacă acesta suferă de o infecție bacteriană. În acest caz, Antigenii specifici din lichidul testat se atașează de Anticorpii receptori. Dacă în plus, soluția conține și o substanță fluoroforă, atunci Antigenii capătă cozi moleculare fluorescente, ce se pot evidenția la microscop sau chiar pe imagini captate de pe telefonul mobil. Pentru calibrarea dispozitivului mobil, s-au realizat multiple frotiuri cu receptori din Anticorpi specifici meningitei bacteriene, în diferite concentrații. Scopul dispozitivului mobil a fost acela de a emite radiația necesară încărcării fluorescente și de a detecta aceasta pe diferite probe la diferite concentrații optimizate în scopul stabilirii unui diagnostic. Realizarea dispozitivului mobil și implementarea software-ului aferent au fost elementele dezvoltate de echipa de proiect ETTI, în care am lucrat și eu.

2.1.2 Prelucrarea software a imaginii fluorescente captate

Eliminarea zgomotului sau îmbunătățirea raportului semnal/zgomot în imagistica fluorescența de celule vii pe medii cu contrast scăzut, reprezintă o permanentă provocare. Astfel, Yang și colaboratorii raportează în 2012 o nouă metodă pentru imagistica celulară fluorescența în medii cu contrast scăzut Semnal/zgomot, bazată pe conceptul PP (Particle Probability), ce estimează caracteristicile vizuale critice ale celulelor marcate, într-o manieră statistică, [17].

Detecția particulelor sau celulelor marcate fluorescent se desfășoară pe parcursul a trei pași principali, [18]:

- eliminarea zgomotului din imagine;
- accentuarea semnalului util;
- punerea în evidență și stabilirea de praguri.

De multe ori primii doi pași se confundă, dar acest lucru este justificat în imagistica pe medii cu contrast ridicat. Însă pentru medii cu contrast scăzut, cum este cel al mediilor celulare actuale, eliminarea zgomotului din imagine este un prim pas esențial. Grija principală la acest prim pas este să nu se elimine acele caracteristici utile mai slabe, care nu mai pot fi recuperate ulterior, obținându-se așa numita detecție fals negativă. Ea poate fi ocolită prin utilizarea algoritmului PP, care se aplică la maparea imaginii inițiale în tonuri de gri pentru a deosebi zonele celulare de interes de fond. Metoda probabilistică de detecție a unei celule marcate se bazează pe construcția și apoi rafinarea unei imagini PP, după ce întreaga imagine captată a fost discretizată ca un carioaij, Fig. 2.3. Cartografierea imaginii PP se face după calculul caracteristicii Haar în fiecare pixel $i(x,y)$ a pătratelor marcate cu tonuri de gri din poza originală.

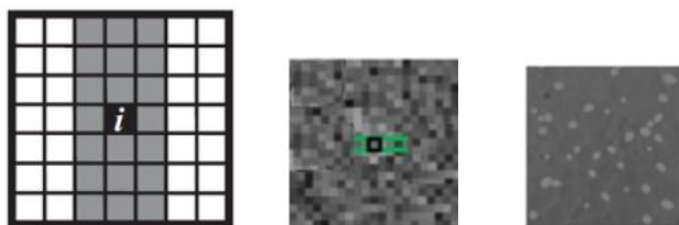


Fig. 2.3 O mapare a imaginii captate după modelul Haar, (imagine adaptată după referința [19])

În această etapă poate fi aplicată segmentarea imaginii estimate a celulei, prin metode similare de marcarea bazinelor hidrografice. Se aplică convenția contrastului maxim pe o unitate de arie între arii mici centrate pe pixel și mediul înconjurător. Apoi se aplică un prag slab pe combinația liniară a acestor caracteristici, pentru a obține o primă distincție între celule și fond.

Metoda de rafinare a imaginii pornește de la filtrul FP-NLM (Feature Preserving - Non Local Means), uzual aplicat pe imagini cu contrast slab, dar aplicat pe o imagine de tip PP. Expresia matematică este de filtru FP-NLM dar aplicat într-un spațiu PP [20]:

$$R(P)(i) = \sum_{j \in W_{1,i}} \omega(i,j)P(j) \quad (2.1)$$

$$\omega(i,j) = \frac{1}{Z(i)} \cdot \exp \left(- \frac{\|F(\mathcal{N}_i) - F(\mathcal{N}_j)\|_{2,a}^2}{h^2} - \frac{\|P(\mathcal{N}_i) - P(\mathcal{N}_j)\|_{2,a}^2}{g^2} \right) \quad (2.2)$$

unde $R(P)(i)$ este ieșirea filtrului de rafinare, $\omega(i,j)$ sunt ponderile pe fiecare pixel, $F(\mathcal{N}_i)$ și $P(\mathcal{N}_j)$ sunt vectorii luați din vecinătatea $\mathcal{N}_{i,j}$ de pe imaginile FP-NLM și respectiv PP.

Acest algoritm conduce la imagini clare datorita robusteții filtrului și evita supra-
netezirea, proces care în alte cazuri ar îndepărta arii utile din celulă.

Tehnicile de microscopie fluorescena pentru imagistica celulelor vii trebuie ajustate
astfel încât se lucrează uneori la un raport SNR - Signal/Noise Ratio - extrem de mic,
de exemplu 4 sau sub 2. În aceste situații, detecția automată a spotului fluorescent este
o adevărată provocare, [21]. S-au realizat algoritmi implementați software, pe baza unor
experimente de imagini sintetice de trei tipuri diferite. Rezultatele au arătat că pentru
experimentele cu un raport SNR foarte scăzut ($SNR \sim 2$), metoda supervizării oferă cele
mai bune imagini de ansamblu. Atunci când SNR este mare, peste 5, diferența în
performanță a tuturor extractorilor software studiați a devenit nesemnificativă.

Microscopia fluorescentă este un instrument de bază astăzi în vizualizarea celulelor vii
și a organelor lor. Aici obiectele ținta sunt etichetate cu proteine fluorescente și apar
în imagini ca niște spoturi de lumina fluorescentă, fiecare ocupând câțiva pixeli, Fig.
2.4. [21]

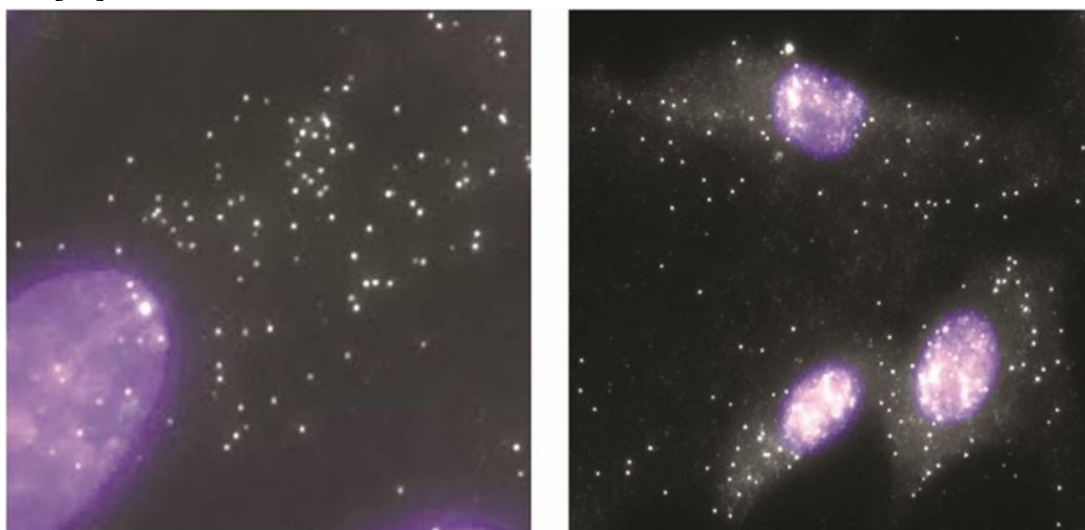


Fig. 2.4 Exemple de imagistică celulară pentru care s-au dezvoltat ulterior tehnici
software de prelucrare a imaginii: (a) Imagine de spoturi mRNA cu marcarea
fluorescentă de tipul "low SNR" cu contrast scăzut; (b) Imagine de tipul "high SNR",
cu contrast ridicat. (imagine preluată din referința [21] cu permisie)

În Fig. 2.4 (a) raportul SNR poate ajunge la valoarea 6, în timp ce în Fig. 2.4 (b), SNR
ajunge până la 2. Cazul imaginilor cu SNR scăzut este frecvent la imaginile celulelor
vii în acțiune, când se aplica o lumina incidentă de intensitate redusă pentru a nu
perturba activitatea celulară normală, dar și în viitoarele noastre experimente am putea
avea tot o intensitate luminoasă redusă, din alte cauze dar cu aceeași abordare. Noi vom
întâmpina o iluminare redusă, sau mai redusă ca cea de sub obiectivul microscopului,
din cauze de simplificare a experimentului, și am fi deosebit de interesați de aceste
prelucrări de imagini la contrast scăzut. Se știe că rezoluția și a celor mai bune
microscopie confocale este de până la 100 nm, relativ nesatisfăcătoare, dacă ne
raportăm la dimensiunile de interes a structurilor sub-celulare - tipic de câțiva
nanometri în diametru, rezultând limitări date de difracție. În consecință, și pentru
biologi este dificil de distins obiectul dorit de fond sau de un artefact sau zgomot.

Algoritmii moderni de detecție a detaliilor, bazate spre exemplu pe distribuția Bayesiană, [22], descrie existența obiectelor în termeni de probabilitate a unor funcții de distribuție. Este deosebirea ce se face dintre algoritmii cu praguri brutale - obiectul într-un loc exista sau nu este 1 sau 0, și algoritmii cu o estimare fuzzy.

2.1.3 Aplicație mobilă pentru sistemele de operare Android/iOS dezvoltată utilizând framework-uri și tehnologii Ionic, nodeJS – Cordova.

Pentru procesarea imaginilor fluorescente pe un dispozitiv mobil s-a dezvoltat o aplicație mobilă ce folosește diferite meniuri de tip html/css javascript dintre care se navighează. Scripturile de calcul sunt incorporate folosind metode low-level de procesare numerică. Pagina principală a aplicației este prezentată în Figura 2.7. Butonul din partea stânga sus trimite utilizatorul la meniul principal de configurare a aplicației (numărul de eșantioane, adâncimea de culoare a camerei și rezoluția imaginii – acestea se pot completa și automat după încărcarea imaginii). [31]

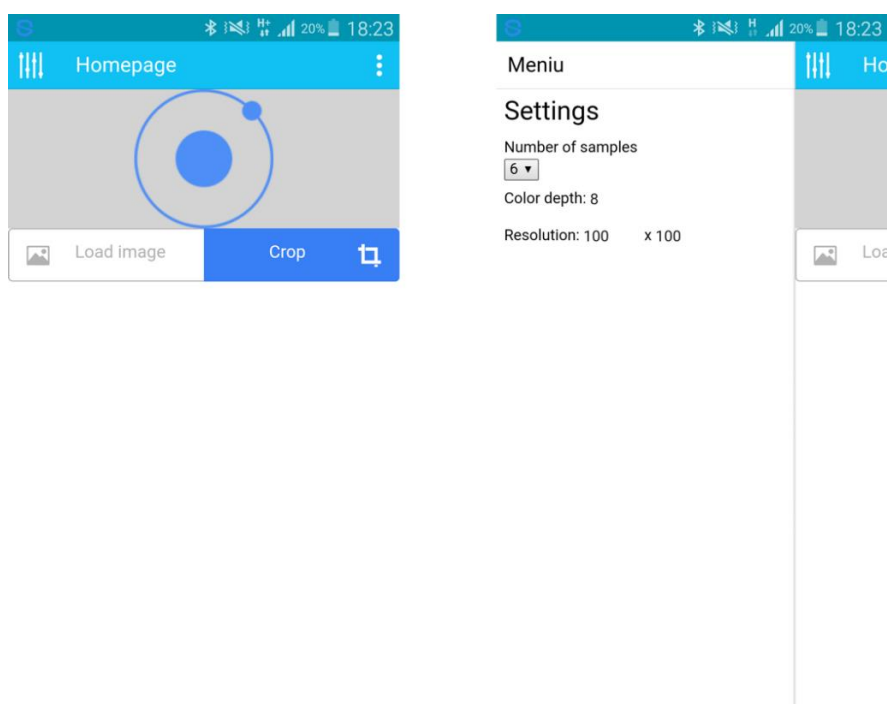


Fig. 2.7 Pagina principală a aplicației (stânga) și meniul de configurare (dreapta).

Butonul de încărcare a imaginii (load Image) va afișa lista completă a fișierelor de tip imagine stocate pe respectivul telefon și cea cu eșantioanele fluorescente trebuie selectată pentru încărcare (în cazul în care imaginea directă este luată de către camera telefonului, pasul de invert nu este necesar), așa cum este prezentat în Figura 2.8. Imaginile trebuie captate prin intermediul unei alte aplicații care vine să completeze camera telefonului și are rolul de a crea o imagine HDR, cum ar fi aplicația “Camera HDR Studio” disponibilă pe Android și iOS.

Butonul de Crop va permite utilizatorului sa selecteze prin touch-screen regiunile de interes (ROIs) și în acest mod cele 6 eșantioane vor fi încărcate.

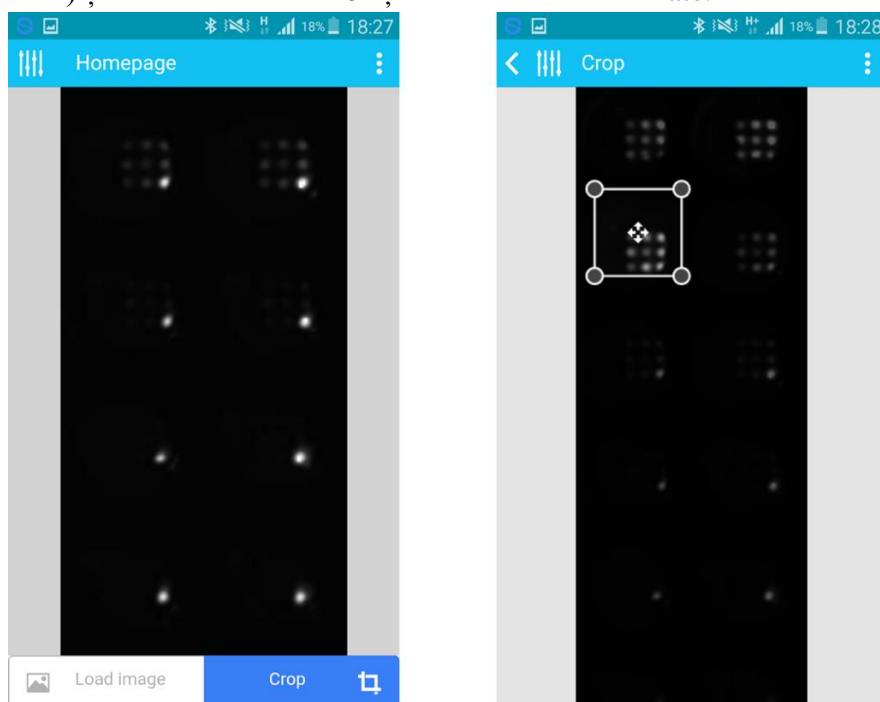


Fig. 2.8 *Imagina încărcată (stânga) și mecanismul de cropping (dreapta).*

După selectarea celor 6 eșantioane se poate opta pentru opțiunea de recrop dacă a fost o eroare umană în timpul crop-ului sau se poate decide, în cazul în care acestea sunt selectate corect, startul procesării care va calcula automat histogramele, va determina valorile de intensitate a fluorescenței, va interpola curba logistica și va afișa parametrii acesteia, așa cum este descris în Figura 2.9 și este publicat în [31].

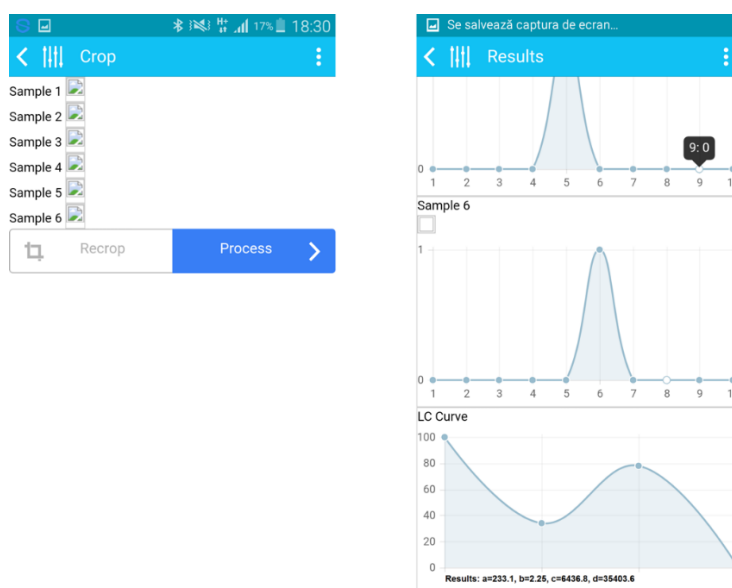


Fig. 2.9 *Meniu cu eșantioanele selectate (stânga) și rezultatele măsurătorii (dreapta).*

Astfel, împreună cu dispozitivul hardware dezvoltat, aplicația de pe telefon reușește să completeze conceptul unui sistem electronic mobil, de colectare și procesare a datelor, complet autonom, cu costuri reduse, și capacitate de diagnostic ridicată.

2.2 Optimizarea modelului funcțional pentru detecția de citokine pe substrat solid

2.2.1 Monitorizarea parametrului sAUC

Pentru optimizarea rezultatelor obținute se monitorizează parametrul sAUC (aria de sub curba pentru soluție, adimensională) în funcție de concentrația de citokina aplicată pe matrice, în două cazuri: curbe de diluții de TNFa și MCP-1 aplicate în amestec peste matricile de anticorpi, Fig.2.10. Alegerea modelului matematic - curbele logistice cu 4 sau 5 parametri, precum și prelucrarea datelor din Fig. 2.10, au fost efectuate inițial în mediul de programare R utilizând pachetul calibFit, cu care au fost calculați parametrii analitici ai detecției (concentrația minimă detectabilă – MDC, limita de detecție certă – RDL, limita de cuantificare – LOQ). Înțelesul parametrului sAUC provine de la modul sau de calcul: scalarea curbei de legare între valorile de 0 și 1, modelarea cu relațiile din interiorul Fig. 2.10 a curbelor de legare, integrarea curbei și aflarea ariei sub curba AUC și scalarea acesteia la media intensității de fluorescența, obținând curba scalată - sAUC.

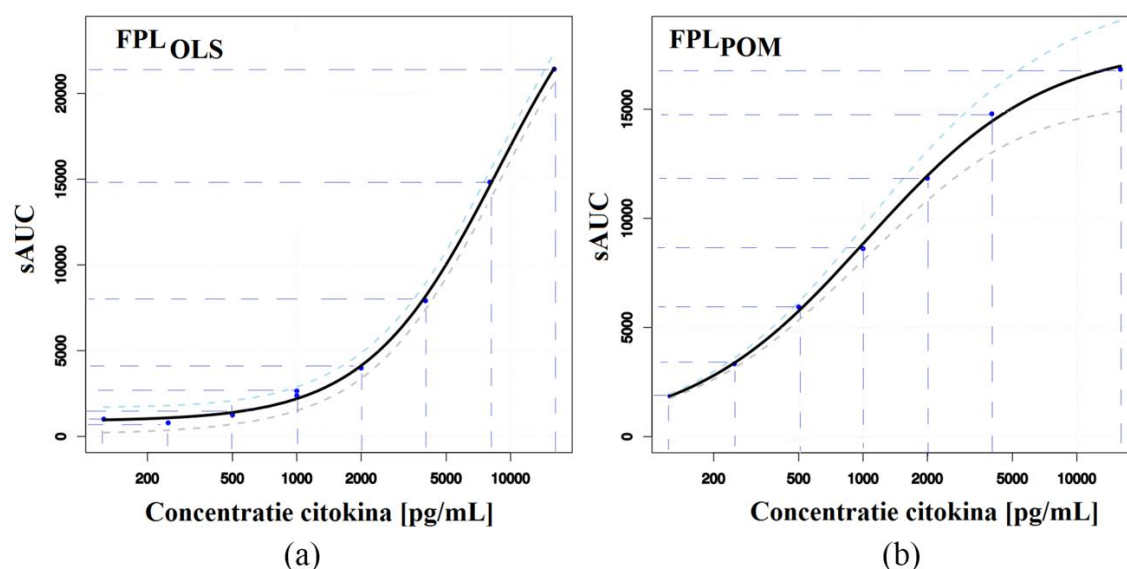


Fig. 2.10 Dependența mărimii sAUC de concentrația de citokine în pg/ml, pentru: (a) MCP-1 – stânga, pentru care definim curba FPL_{OLS}; (b) TNFa – dreapta, pentru care definim curba FPL_{POM}.

2.2.2 Metoda grafică

Optimizarea concentrațiilor de soluție s-a făcut inclusiv prin metoda grafică prin care s-au extras punctele experimentale (x,y) de pe fiecare din curbele FPL_{OLS} și FPL_{POM} din Fig. 2.10. Aceste puncte, prin interpolare cu funcții spline, generează următoarele grafice din Fig. 2.11. În continuare, vom considera ca acestea sunt curbele adevărate, de referință, față de care trebuie să ne calibrăm modelele analitice ulterioare.

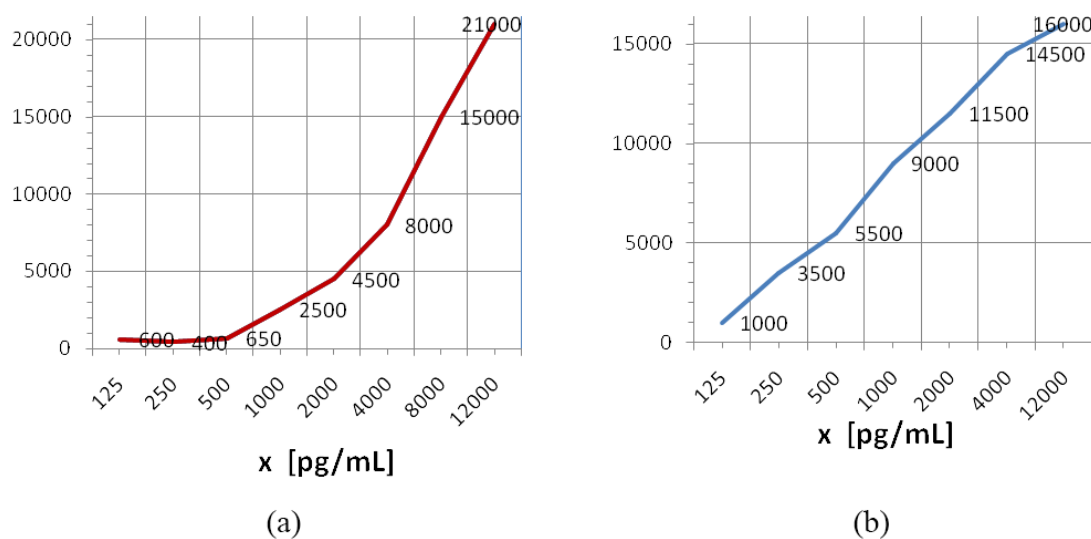


Fig. 2.11 Curbele de interpolare experimentale, $y-x$, unde $y=sAUC$ și x reprezintă concentrația de citokina în pg/ml , pentru: (a) curba FPL_{OLS}; (b) curba FPL_{POM}.

2.2.3 Metoda analitică

S-a propus de asemenea un algoritm cât mai controlat pentru extragerea parametrilor curbei logistice, astfel încât modelul curbei logistice să se apropie cât mai bine de punctele măsurate experimental din Fig. 2.11. În acest scop, se va construi o funcție de minimizare a erorii pătratice medii dintre fiecare punct măsurat și punct calculat cu funcția logistica - aleasă sub forma ecuației (2.11). Această funcție F va avea ca variabile exact parametrii ce trebuie extrași, adică va fi o funcție de 4 variabile pentru curba logistica cu 4 parametri ($\beta_1, \beta_2, \beta_3$ și β_4) sau va fi o funcție de 5 variabile pentru curba logistica cu 5 parametri ($\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$ și σ_ϵ). Spre exemplu, aceasta funcție de minimizare a erorilor, F_1 , pentru FPL_{OLS} va avea expresia compactă, în cele 8 puncte de măsură:

$$F_1 = \sum_{k=1}^8 [FPL_{POM,calc}(x_k) - FPL_{POM,masurat}(x_k)]^2 \quad (2.13)$$

2.2.4 Metode numerice

S-a implementat pentru determinarea minimumului global metoda Monte Carlo deterministică ce va indica optimul global cu o eroare dată de pasul ales în varierea parametrilor, cu dezavantajele unei complexități mari a algoritmului data de numărul de parametri care trebuie determinați. În contra-partidă, celelalte metode indicate prezintă un timp de rulare mai mic dar nu garantează detectarea optimului global.

Simularea Monte Carlo utilizează sampling aleator și modelare statistică pentru a estima funcții matematice și a imita comportamentul sistemelor complexe, având aplicații în generarea de numere aleatoare care urmăresc funcții specifice de distribuție a probabilității. Exemplele comune sunt distribuție uniformă, exponențială, normală și Poisson.

2.2.5 Rezultatele algoritmului Monte Carlo

Spațiul erorilor pătratice medii pentru fiecare rulare a algoritmului (combinație de 4 parametri) este prezentat în Fig. 2.16, cu iterația care a rezultat cea mai mică eroare fiind evidențiată:

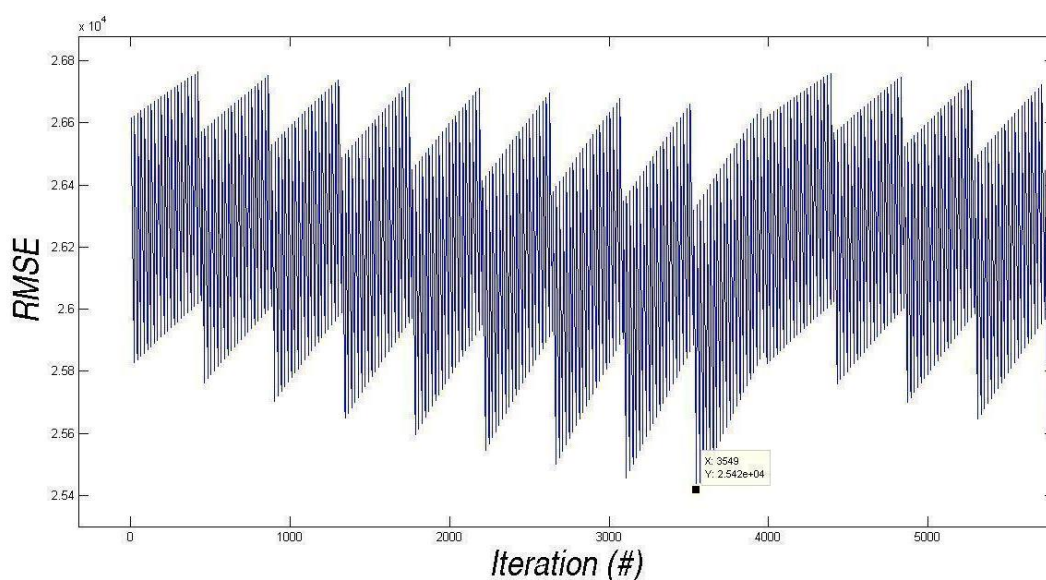


Fig. 2.16 Spațiul erorilor per iterație generată – combinație de 4 parametri

Curba logistică cu parametrii (b_1, b_2, b_3, b_4) care au rezultat din minimumul rmse este reprezentată cu albastru iar punctele inițiale care trebuie interpolate sunt cu roșu în Fig. 2.17.

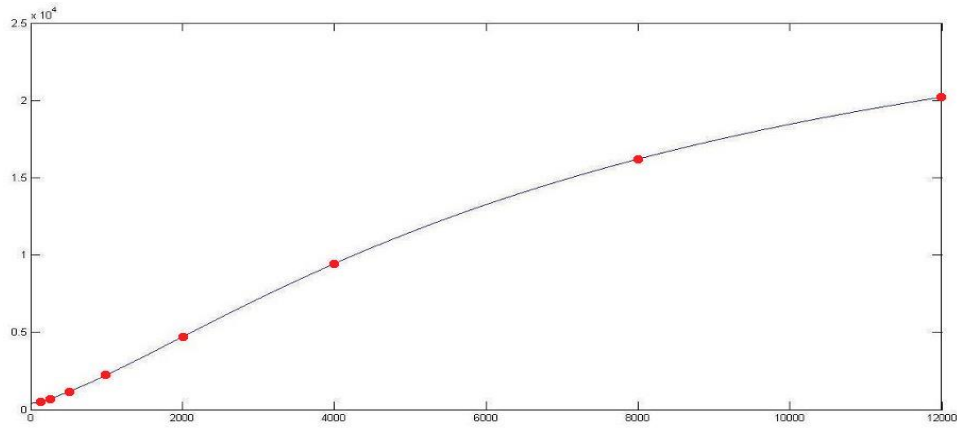


Fig. 2.17 Curba Logistică cu parametrii care rezultă în rmse minim

Rezoluția și acuratețea cu care se determină parametrii poate fi controlată prin pasul generatorului de parametri, un pas mai mic pentru varierea parametrilor rezultând într-un timp de execuție mai îndelungat al algoritmului.

2.2.6 Concluzii, optimizare și implementare în aplicația mobilă

Contribuțiile originale ale autorului prezentei teze la acest capitol au vizat dezvoltarea/optimizarea modelului funcțional pentru detecția de citokine pe substrat solid. S-au aplicat metode analitice și numerice bazate pe principii fundamentale de optimizare, interpolare, fitting, folosind diverse instrumente Software și suportul Hardware aferent.

Capitolul 3

Realizarea modelului experimental pentru un dispozitiv mobil de diagnosticare a bolilor tropicale

3.1 Studiu cu privire la bolile tropicale

3.1.1 Introducere în bolile tropicale comune

În cadrul proiectului European TROPSENSE [W3] ne-am propus să demonstrăm fezabilitatea unei metodologii neinvazive, sigure și prietenoase pacientului pentru diagnosticarea rapidă a bolilor tropicale la fața locului.

3.1.2 Eșantionarea probelor de respirație și conceptul de nas electronic

Pentru identificarea biomarkerilor obișnuiți ai bolilor tropicale investigați în proiectul TROPSENSE și fără a lua în considerare diferențele dintre populațiile cu caracteristici genetice și de stil de viață diferite, voluntari din trei locații geografice diferite (Europa, America de Sud și Maghreb) au fost incluși în acest studiu. Voluntarii au furnizat mai multe probe de respirație pentru analiză. Colectarea probelor de respirație a urmat o procedură standardizată utilizată de echipa de cercetare în experimente anterioare, care asigură colectarea probelor de aer adânc din interiorul plămânilor, evitând în același timp antrenamentele externe [44].

3.2 Analiza datelor colectate

Datorită cantității mari de date care au fost achiziționate de diferiți parteneri și a diversității formatelor de date utilizate de fiecare partener din proiect, un format comun de date / instrument de conversie a datelor a fost dezvoltat mai întâi ca o condiție prealabilă pentru tratarea datelor. Pentru a permite o interacțiune eficientă între panouri, a fost selectată o platformă de stocare în cloud și schimb de date obținute pe site-uri diferite. Analiza datelor s-a concentrat pe algoritmi de detecție care oferă rezultate de clasificare și valori de încredere ridicate. Au fost clasificate probele în clase de boli recunoscute de la pacienții controlați, împreună cu mostre neclasificate.

3.3 Prototip de instrumentație portabilă pentru detecția bolilor tropicale

De asemenea, performanța analitică a QCLs combinată cu ghiduri de undă goale integrate a fost determinată și comparată cu analiza chimică a COV în respirația expirată.

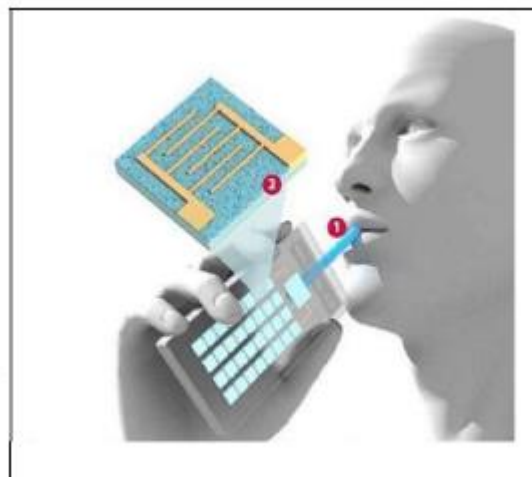


Fig. 3.3 *Reprezentare schematică a dispozitivului de colectare a probelor de respirație*

Sistemul portabil care a fost proiectat și fabricat cuprinde: o unitate de condiționare atașabilă prevăzută cu capacitate de încălzire pentru condiționarea probelor de respirație (aici tubul de sorbent cu proba de respirație stocată este încălzit prin aplicarea unui impuls de încălzire adecvat, iar respirația COV-urile realizate din materialul absorbant sunt transferate într-o cameră de condiționare pentru omogenizarea amestecului volatil); o cameră de expunere găzduind dispozitivele de detectare; electronică necesară pentru controlul, achiziționarea și procesarea citirii senzorilor, un software pentru analiza și interpretarea datelor care încorporează modelul de recunoaștere a modelelor dezvoltat; și un afișaj pentru vizualizarea rezultatelor diagnosticului. Acest prototip portabil urmează să fie testat la fața locului pe noi pacienți și voluntari de control la sfârșitul acestui proiect.

3.4 Optimizarea algoritmilor Matlab pentru caracterizarea frecvențelor detectate

Power Spectral Density (PSD) este măsura puterii unui semnal ca funcție de frecvență. PSD este folosit pentru a caracteriza semnale în bandă, obținute de la diferite surse, în acest caz senzori de gaze. Amplitudinea PSD este normalizată prin rezoluția spectrală folosită pentru digitalizarea semnalului. Aplicarea unui filtru Hanning a avut rolul de a diferenția mai bine frecvențele de interes, o rezoluție mărită în spectrul de frecvențe, și pentru capabilitățile sale în timp real. În Fig. 3.4 se observă un exemplu de PSD obținut

prin măsurătorile obținute de la senzorii de gaze pentru aer și formaldehida la o concentrație de 7 ppm.

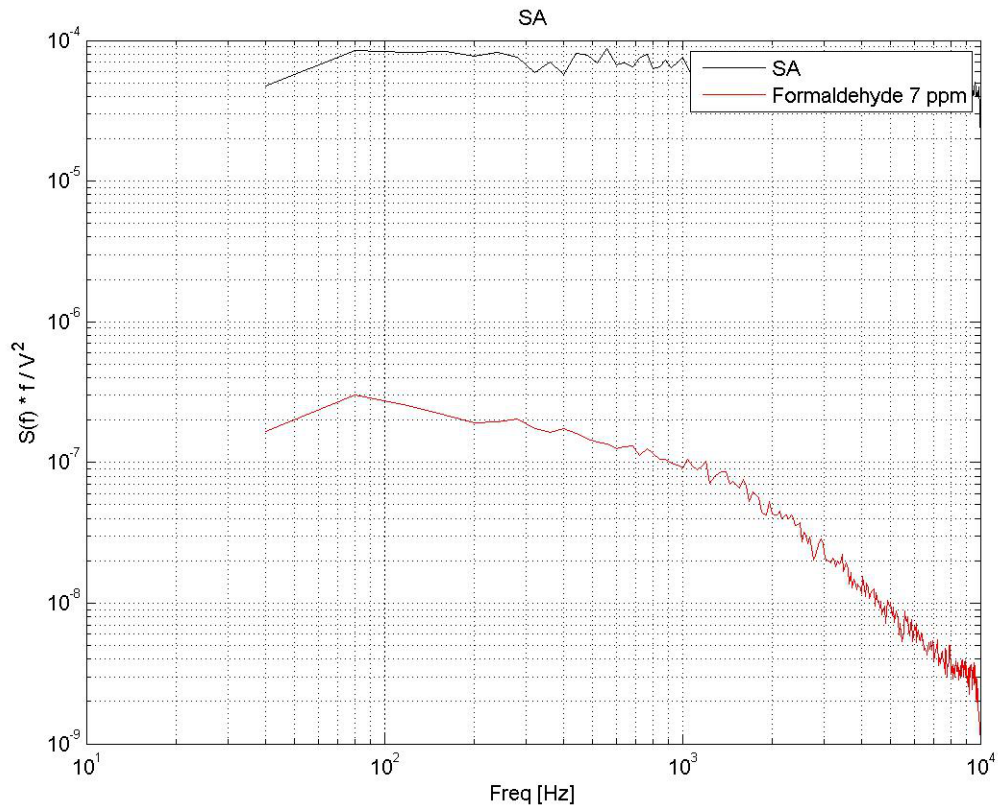


Fig. 3.4 Spectrul PSD al frecvențelor pentru aer sintetic și formaldehida. Se observă diferențe semnificative pentru DFA la valori specifice de frecvență [40Hz, 320Hz, 1000Hz, 5000Hz]. [62]

Etapele de procesare a semnalelor provenite de la senzori implică procesarea fișierelor de tip .lvm (LabView measurement):

- Înregistrarea datelor la o frecvență ridicată - 5 kHz (Tab. 3.1)
- Procesare de date de dimensiuni mari - 2 minute de înregistrare
- Optimizarea memoriei și a procesorului folosit
- Optimizarea timpului de procesare pentru calculul PSD
- Livrarea graficelor și consolidarea acestora pentru analiza DFA

Principalele optimizări ale codului sunt următoarele:

- Folosirea cellfun pentru vectorizarea datelor din format lvm/csv
- Curățarea datelor: validarea integrității datelor și integrarea datelor parțiale
- Folosirea cell2mat pentru îmbunătățirea performanței pe operații matriceale
- Folosirea expresiilor regulate pentru optimizarea extracției datelor
- Prealocarea memoriei structurilor pentru optimizarea memoriei și timpului de procesare
- Folosirea algoritmilor de transformare Fourier rapidă discretă optimizați (Cooley-Tukey) FFT, prin segmentarea datelor într-o cardinalitate de putere a

lui 2 și mecanisme de zero padding (completare cu 0-uri a vectorilor) pentru vectorii de margine

- Îmbunătățirea mecanismelor de logare a erorilor și telemetrie

Datele colectate la frecvență înaltă sunt citite de procesorul optimizat lvm, și analiza Discriminant Function Analysis (DFA) a PSD pe frecvențele alese ca reprezentative (40Hz, 320Hz, 1000Hz, 5000Hz din Fig. 3.4 [62]) este efectuată. Rezultatul este prezentat în Fig. 3.8.

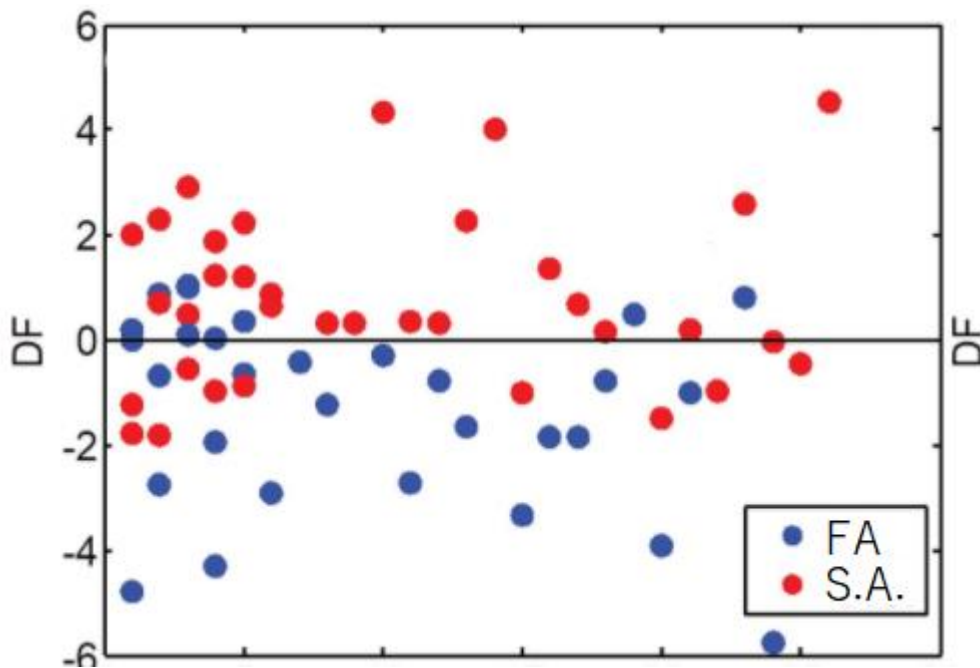


Fig. 3.8 DFA între frecvențele selectate din PSD al aerului sintetic (SA - roșu) și formaldehidă la concentrație de 7ppm (FA sau F7- albastru) la diferite măsurători efectuate. DF reprezintă linia de demarcație cu un interval de încredere de 95%

3.5 Concluzii

În acest capitol de teză au fost prezentate contribuțiile personale la crearea unui test de respirație rapid, neinvaziv și ieftin pentru diagnosticul celor mai comune boli tropicale.

Capitolul 4

Utilizarea procesării de imagini pentru reconstrucție oculară

4.1 Realizarea modelului experimental al unui implant ocular prin tehnica 3D bioprinting

În acest capitol de teză se prezintă o altă aplicație de software integrat cu unelte de proiectare, ce are ca finalitate realizarea unui glob ocular artificial. Procesarea de imagine permite reconstrucția unor organe dimensionate personalizat, pornind de la imagini medicale obținute, în mod comun, prin tomografie computerizată. Contribuțiile personale în această direcție au fost realizate în cadrul proiectului ORBIMPLANT [W6]. Ținta a fost realizarea unui implant ocular personalizat, pornind de la imagini CT, utilizând tehnici de printare 3D și materiale biocompatibile special dezvoltate pentru a permite o viteză ridicată de proliferare a țesuturilor.

4.2 Procesarea imaginilor DICOM

S-a utilizat pentru prima dată într-o astfel de aplicație (implantologie oculară) software-ul de reconstrucție DeVide cu o rețea originală și optimizări de parametri specifici. Rețeaua finală este prezentată în Fig. 4.8 și rezultatul final în Fig. 4.9.

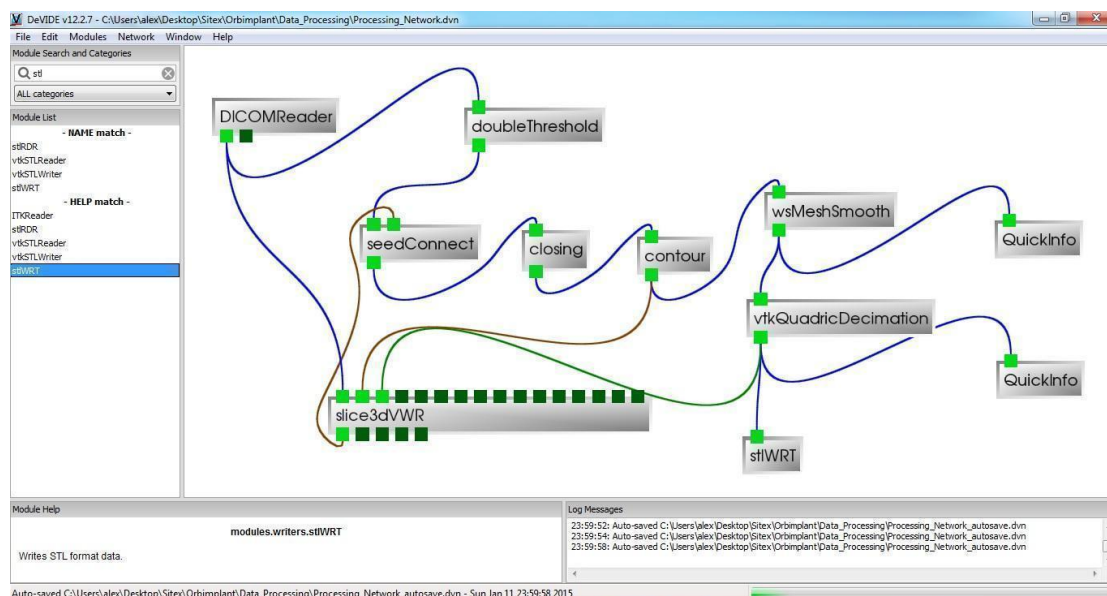


Fig. 4.8 Reteaua DeVide pentru realizarea algoritmului de procesare ce realizează extragerea modelului teselizat (.stl).

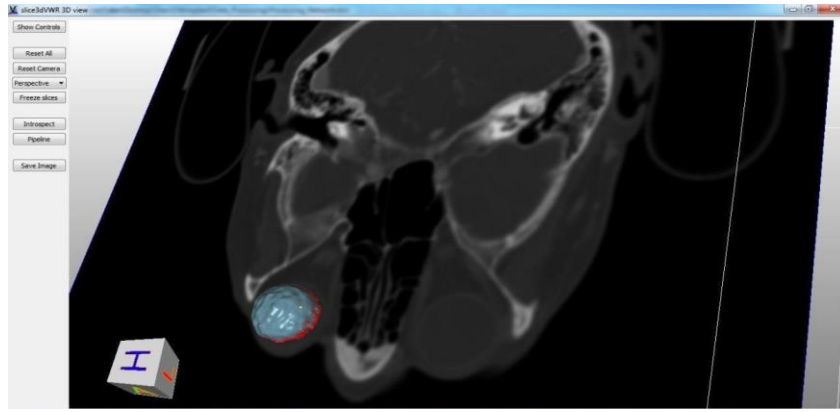


Fig. 4.9 Modelul teselizat (.stl) al regiunii de interes, în cazul de fata globul ocular

4.3 Realizarea și exploatarea modelului experimental

Pentru a realiza modelul experimental și fabricarea structurilor poroase necesare pentru implantul ocular, se pornește de la rezultatul modelării și simulării reconstrucției 3D prin metode software/procesare de imagini. Rezultatul etapei de procesare de imagini a fost o metoda software semi-automata de obținere a modelului .stl, model care urmează a fi încărcat ca atare în mașina de printat de tip bioscaffold, model producție SYSENG - BioScaffold Software Vers. 3.0-USB cu o configurație specifică aplicației și materialelor folosite, în scopul obținerii porozității controlate se utilizează structuri de tip fagure. În cazul structurilor fagure, pereții au grosimea între 100 și 200 de micrometri, iar diametrul porului între 200 și 400 de micrometri, diferite aranjamente a unor astfel de celule [65]. Rezultatul printării este implantul propriu-zis, prezentat în Fig. 4.18

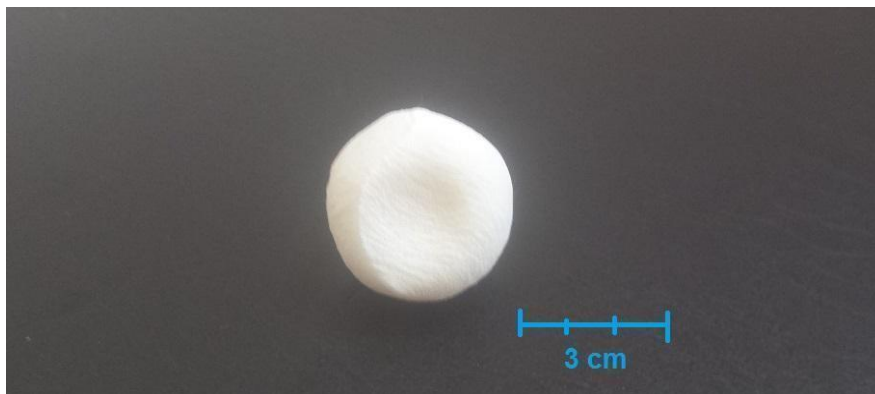


Fig. 4.18 Modelul experimental al implantului ocular [66]

Fezabilitatea utilizării tehnicilor de printare 3D folosind materiale biocompatibile a fost de asemenea demonstrată, pornind de la imagini medicale (CT) și utilizând tehnici de procesare de imagini pentru personalizarea implantului. Rezultatele au fost publicate [66] și, pentru aceste rezultate, un patent a fost acordat contribuitorilor [67]. Modernitatea și inovația aduse de această tehnică au fost premiate cu medalia de argint la Salonul Internațional de Invenție de la Geneva în 2018 [W10] și la Salonul Euroinvent 2018 (ediția a 10-a) pentru invenții cu aplicații în medicina [W11].

Capitolul 5

Măsurători de precizie a micropensetelor biomedicale

5.1 Caracterizarea și măsurarea deschiderii micropensetelor de tip MEMS pentru aplicații biomedicale

Scopul principal al proiectului ROBOGRIP [W12] la care am fost membru în echipă, a constat în dezvoltarea unui sistem robotic pentru micro-manipulare care să fie compus din micro-pensete cu senzori de poziție/forță integrați pentru manipularea celulelor. Pentru atingerea acestui scop au fost dezvoltate o serie de micro-pensete cu acționare electro-termică, care să îndeplinească diferite funcții (poziționare, împingere-tracțiune, apucare), și care să fie integrate într-un sistem robotic de micromanipulare. Efectuatorii au fost proiectați la nivel de sistem datorită interdependenței lor în funcționare, considerând și tehnologia de fabricare și materialele componente.

5.2 Dezvoltări ale tehnicii de tracking în timp real

Un algoritm de tracking care dă rezultate bune în multe circumstanțe este algoritmul Lucas-Kanade [16], folosit pe scară largă în aplicații de computer vision. Algoritmul are ca scop identificarea și tracking-ul punctelor de tip "Harris" care pot fi definite ca și puncte de inflexiune, având un răspuns înalt atât pe gradientul vertical cât și pe cel orizontal. Algoritmul funcționează sub presupunerea că aceste puncte își mențin aceleași proprietăți în cadrul unei mișcări (mici) de la un cadru la următorul.

Sub circumstanțele de precizie mare care sunt necesare în aplicația de față, un algoritm bazat pe corelație care are scopul de a urmări regiuni de interes (brațele gripperului) ca elemente distinctive în imagine poate fi folosit. Algoritmul constă în următorii pași principali:

1. Reinițializare: se încarcă videoul de analizat, se setează anumiți parametri și se aleg template-urile distinctive (brațele gripperului) pentru a fi urmărite de la cadru la cadru.
2. Pre-filtrare (opțional): aplicarea unor filtre diferite pentru a reduce zgomotul și a îmbunătăți raportul semnal-zgomot, a scoate în evidență anumite elemente din imagine, detectarea muchiiilor brațelor gripperului/edge detection etc., folosind convoluții cu diferite kernel-uri specifice (Gaussian, Sobel, etc.)
3. Analiza cadru-cu-cadru: la fiecare cadru, template-urile sunt corelate într-o anumită vecinătate (aria de căutare) a ultimei lor poziții detectate, și cea mai bună identificare (minimumul global în corelație) va fi raportat ca noua poziție. Template-urile se vor actualiza corespunzător.

În acest context, corelația dintre template-ul A și imaginea de regiune B este definită ca norma Frobenius dintre matricele A și B:

$$\|A - B\|_F$$

Norma Frobenius a unei matrici C de dimensiuni m x n fiind definite ca:

$$\sqrt{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n |c_{ij}|^2}$$

Un exemplu de tracking între cadrele 1 și 2 este prezentat în Fig. 5.3.

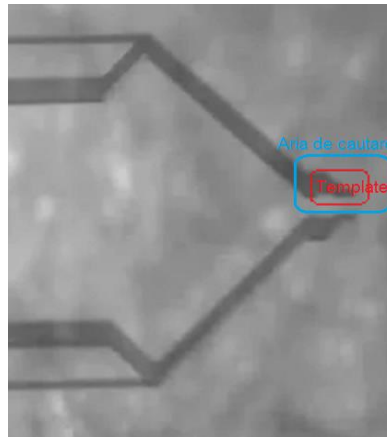


Fig. 5.3 Un template distinctiv (roșu) și aria de căutare din jurul lui (albastru)

Calculând rezultatele corelației dintre template și aria de căutare se obțin valorile prezentate în Fig. 5.4.

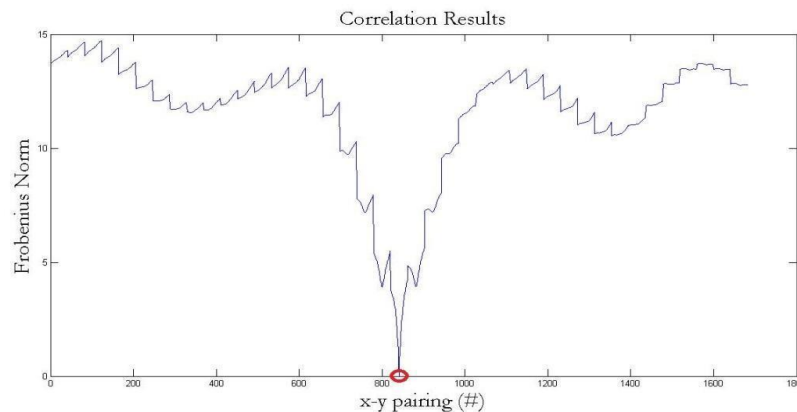


Fig. 5.4 Rezultate corelației dintre template și zona de căutare pentru diferite poziții x-y în zona de căutare. Punctul minim indicat cu roșu.

După încărcarea video-ului obținut cu camera CCD focalizata pe micropensetă, se utilizează aplicația Matlab dezvoltata pentru proiect si s-au încercat diverse configurații. Cele mai bune rezultate sunt date de aplicarea unei transformări binare la care se poate

configura valoarea de prag. Cu un prag de 140 se obțin următoarele rezultate care relevă o separare clară a brațelor gripperului (care devin astfel complet negre) fata de fundal (care devine astfel complet alb [69]), Fig. 5.11.



Fig. 5.11 Configurarea cu un prag de 140

La apăsarea butonului “Start Processing” se va porni tracking-ul automat pe brațele gripperului care sunt selectate în prealabil. La fiecare cadru se va afișa în graficele de tip plot din partea dreapta distanța între brațe înregistrată atât în pixeli cât și în microni (folosind scalarea cu factorul configurat în câmpul “Pixel/micron”).

Se observa îndepărtarea brațelor (marcate de cercurile roșu și verde) înregistrată ca valori mai mari în plotul din dreapta (maxim 85 de pixeli pana la cadrul curent), Fig. 5.12.

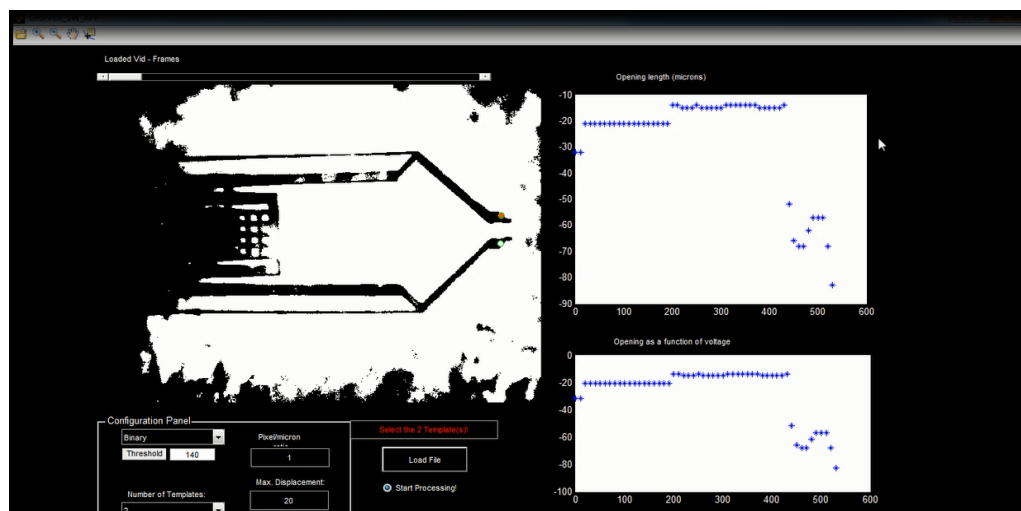


Fig. 5.12 Începerea procesării pe baza configurației stabilite

Continuând procesarea pe mai multe cadre se observă depărtarea suplimentară a brațelor - înregistrată ca valori mai mari în plotul din dreapta (maxim 140 pixeli până la cadrul curent), Fig. 5.13.

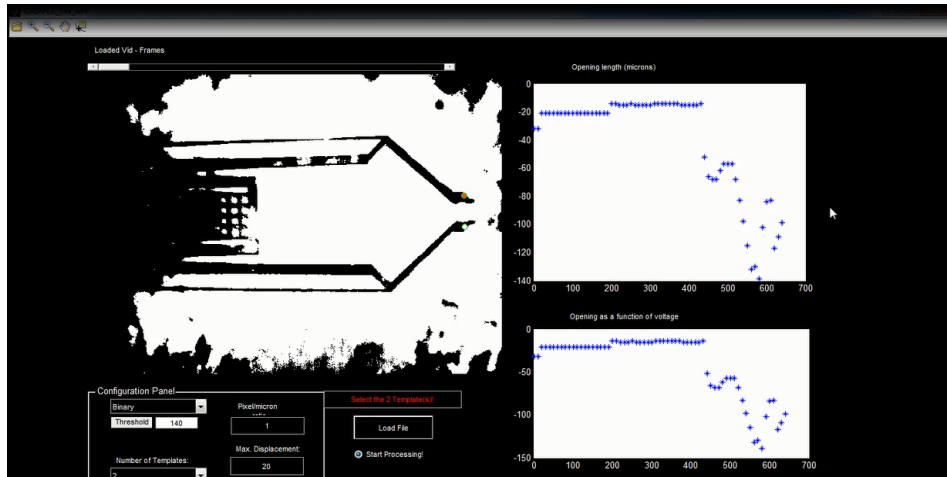


Fig. 5.13 Rezultatele obținute pe baza configurației stabilite

Rezultatele arată că modelul poate fi validat împreună cu o descriere fidelă a caracteristicii de deschidere a brațelor în funcție de curentul/tensiunea electrică aplicată. Elemente de reglaj fin permit îmbunătățirea continuă a modelului.

Validarea sistemului propus a fost făcută utilizând ca sursă de adevăr măsurătorile efectuate cu sistemul dezvoltat de partenerul din consorțiu – Universitatea Tehnică din Cluj-Napoca, rezultatele fiind descrise sumarizat in Tabelul 5.1. Se poate observa că se poate atinge o acuratețe la nivel chiar de sub-pixel, similar cu rezultatele din literatura pentru alte aplicații [70].

Deschidere (microni)	16	20	60	80	100	120	140
Cadru1	16	20	58	80	100	120	140
Cadru2	17	20	62	81	102	118	138
Cadru3	16	20	62	81	101	119	139
Cadru4	16	20	61	81	100	118	140
Cadru5	16	19	60	78	100	120	139
Cadru6	15	20	62	79	97	121	139
Cadru7	16	20	60	81	100	118	138
Cadru8	17	19	61	80	101	119	140
Media	16.125	19.75	60.75	80.125	100.125	119.125	139.125
Deviatia standard	0.599479	0.433013	1.299038	1.053269	1.363589	1.053269	0.780625
Accuratete	0.125	-0.25	0.75	0.125	0.125	-0.875	-0.875
Std medie	0.940326						
Acuratete medie	0.446429						

Tab. Eroare! În document nu există text cu stilul precizat..1 Rezultatele măsurătorilor prin algoritmul Lucas-Kanade adaptat comparate cu măsurătorile sistemului de referință

Capitolul 6

Concluzii

În prezenta lucrare se face o demonstrație atât la nivel teoretic, dar mai ales la nivel practic a utilizării tehnicilor de procesare de imagini și procesare de semnale, fără însă a se impune limitarea la acestea, în cadrul unor aplicații specifice domeniului biomedical.

6.1 Rezultate obținute

În capitolul II sunt prezentate rezultatele obținute în dezvoltarea unui concept inovativ de diagnosticare a meningitei bacteriene - proiectul MEDICY. S-a realizat un dispozitiv hardware cu o fixtură pe telefonul mobil și un sistem optic de simulare a fluorescenței, captare focalizată a acesteia, și permiterea înregistrării imaginilor utilizând camerele standard ale dispozitivelor mobile. O implementare în MATLAB (aplicație desktop) cât și o implementare bazată pe framework-ul IONIC care rulează pe telefoane mobile de tip Android și iOS au fost realizate. Algoritmii implementați în aceste programe au fost optimizați pentru procesarea curbei logistice de diagnosticare. Optimizarea modelului funcțional pentru detecția de citokine pe substrat solid a fost efectuată utilizând o serie de metode, utilizându-se rezultatele obținute din simularea Monte Carlo efectuată în MATLAB care a dat rezultatele cele mai precise, în implementarea finală a software-ului aferent dispozitivului mobil. Produsul final este mobil, are costuri reduse, minim invaziv, nu necesită microscopie, și utilizează dispozitive mobile cu software integrat pentru o rată de diagnosticare ridicată.

În capitolul III sunt ilustrate tehnici de procesare de semnal provenind de la senzori de gaze, într-un prototip de nas electronic construit în scopul diagnosticării bolilor tropicale cele mai comune, atât bacteriene cât și virale - proiectul TROPSENSE. O analiză a impactului acestora și a dificultăților prezente de diagnosticare a fost făcută. S-au livrat contribuții legate de realizarea dispozitivului experimental de colectare a mostrelor de respirație, un dispozitiv simulat prin tehnici de design asistat de computer. Dispozitivul realizat este din piese modulare, și a permis atașarea atât a tuburilor Tenax cât și a rezervoarelor și buteliilor de gaze prezente în laborator pentru facilitarea simulărilor efectuate. Pompele de introducere a gazelor în camera de măsurători în care au fost montați senzorii Bosch au fost controlate utilizând software-ul LabView, prin care s-a făcut de asemenea și colectarea datelor măsurate de senzori. Procesarea datelor prin FFT și optimizarea timpului de procesare pentru a permite analiza volumelor mari de date colectate sunt contribuții principale ale autorului în cadrul tezei. De asemenea, o contribuție importantă o reprezintă implementarea algoritmului de clasificare DFA

care permite o separare clară între diferiții compuși organici volatili, elemente metabolomice esențiale pentru diagnosticare utilizând nasul electronic prototipat. Algoritmul de clasificare și diagnosticare are o acuratețe similară cu rezultatele obținute pentru bolile gastrice în alte cercetări de tip nas electronic – „electronic nose”.

În capitolul IV s-au utilizat tehnici de procesare de imagini pentru reconstrucție oculară în cadrul proiectului ORBIMPLANT. O contribuție importantă a autorului o reprezintă dezvoltarea software-ului de reconstrucție oculară utilizând software-ul DeVide. Astfel, implanturile oculare pot fi personalizate pentru fiecare pacient în parte care necesită o astfel de proteza. Rezultatul reconstrucției este finit și gata de a fi introdus în mașini de printat 3D moderne. O altă contribuție importantă o reprezintă configurarea mașinii de printat și producerea modelului experimental cu o structură de tip fagure care să faciliteze o viteză de proliferare a țesuturilor ridicate. Toate aceste elemente, combinate cu dezvoltările de materialele biocompatibile pentru mașina de printat 3D, au condus la depunerea unui Brevet pentru toți contributorii la conceptul propus, și o medalie de argint la Salonul de Inventică de la Geneva.

În capitolul V s-au prezentat metode software pentru efectuarea unor măsurători de precizie în scopul caracterizării micropensetelor microrobotice dezvoltate în cadrul proiectului ROBOGRIP. O alternativă de caracterizare a deschiderii brațelor micropensetei ca funcție de curentul/voltajul aplicat a fost făcută, utilizând mecanisme de optimizare a imaginilor colectate și algoritmi de tracking în timp real (Lucas-Kanade) de corelație. Metoda propusă a fost prezentată ca o alternativă viabilă la sistemul mai sofisticat cu lasere propus pentru măsurare de către echipa de la Universitatea Tehnică din Cluj, parteneră în proiect. Astfel, se poate obține, conform estimărilor, o reducere de cost a sistemului de măsurare cu aproximativ 80%. Soluția de măsurare propusă are o acuratețe sporită, la nivelul altor adaptări ale algoritmilor utilizați în aplicații diferite de cea prezentată.

6.2 Contribuții originale

În prezenta lucrare, elementele ce constituie contribuții originale, sunt reprezentate de propunerile privind utilizarea anumitor tehnici de procesare de imagini și de semnale în aplicații biomedicale foarte specifice și dispozitive mobile acolo unde este cazul. Pentru realizarea conceptelor propuse și a modelelor experimentale, componenta de dezvoltare de hardware dedicat fiecărei aplicații în parte a fost de asemenea atins, pentru facilitarea colectării semnalului de interes, imagini colectate sau date numerice colectate prin utilizarea diferitor parametri ai senzorilor de interes. Optimizarea modelelor și alegerea algoritmilor potriviți pentru fiecare caz în parte, împreună cu combinarea tehnicilor tradiționale și moderne, reprezintă contribuția cea mai importantă a autorului, în cadrul prezentei lucrări și a proiectelor în care a fost implicat. Cunoștințele profunde și utilizarea MATLAB la nivel ridicat au permis optimizarea algoritmilor de procesare și clasificare din proiectul legat de boli tropicale, deschizând posibilitatea procesării volumului mare de date colectate, lucru care nu ar fi fost posibil

fără optimizările implementate de autor. Determinarea frecvențelor de interes din PSD pentru input-ul algoritmului de clasificare a fost astfel posibilă, iar algoritmul de clasificare are o acuratețe similară cu cea obținută în literatură pentru alte patologii. Menționez ca societatea Sitex 45 a depus ulterior de asemenea o cerere de brevet pentru soluția propusă în cadrul proiectului.

Am contribuit, prin utilizarea software-ului DeVide, la reconstrucția programabilă a implantului personalizat, producând un model al reconstrucției compatibil cu mașinile de printare 3D. Implantul ocular personalizat reprezintă o noutate în domeniul biomedical, utilizarea porozității controlate și a materialelor cu biocompatibilitate ridicată pentru mecanisme de reconstrucție automată fiind elemente pur inovative. Obținerea unui model valid pregătit pentru tehnici moderne de printare 3D, precum și abordarea studiului mașinii de printat în scopul atingerii structurii de tip fagure cu materialele dezvoltate în mod dedicat pentru proiect, necesare pentru proliferarea țesuturilor și o biocompatibilitate ridicată, au fost de asemenea contribuții esențiale, care au permis autorului să fie co-autor al unui Brevet de Invenție și câștigător al unei medalii de argint la Salonul de Inventica de la Geneva în 2019 și la salonul EuroInvent (Iași 2018).

O altă contribuție originală este și dezvoltarea unei metode alternative de caracterizare a deschiderii brațelor unei micropense dezvoltată pentru aplicații biomedicale. Aici autorul a reușit să proceseze imaginile și să aplice algoritmi utilizați în principal în domeniul computer vision, reușind atingerea unor performanțe de măsurare de precizie și caracterizare, similare cu metodele mai sofisticate și mai costisitoare propuse de consorțiu..

6.3 Lista lucrărilor originale

Articole in Jurnale ISI, zona Q4.

[1] A. Voina, **A. Topor**, G. Alecu, C. Voina, F. Babarada, D. Manuc, „Integrated Sensors Network into an Acquisition Platform for the Air Quality Monitoring”, *ISI Journal Rev. Roum. Sci. Techn.– Électrotechn. et Énerg.*, vol. 3, pp. 305-310, **WOS:000414507000015**, 2017, FI=0.777

https://www.researchgate.net/publication/320539775_Integrated_sensors_networks_into_an_acquisition_platform_for_the_air_quality_monitoring

[2] **Topor Alexandru**, Ulieru Dumitru, Ravariu Cristian, Babarada Florin, „Development of a new one eye implant by 3D bioprinting technique”, *Rev. Roum. Sci. Techn.– Électrotechn. et Énerg.*, vol. 68, no. 1, Bucharest, 2023, WOS in asteptare.

[3] **Topor Alexandru**, Voicu Rodica Cristina, Ulieru Dumitru, Ravariu Cristian, Babarada Florin, „Image processing algorithms for characterization of MEMS type

micro-tweezers aperture”, JOAM-RC- Journal of Optoelectronics and Advanced Materials, 16, 11-12, December 2022, pp. 505-508 WOS in asteptare.

Articole publicate in Proceedings-uri de Conferinte indexate ISI sau IEEE

[1] **A. Topor**, C. Ravariu, F. Babarada, I. Caras, B. Patrichi, „Fast fluorescence detection in optical bio-systems”, Proceedings of 39-th IEEE-ISI Int. Conference of Semiconductor CAS, Sinaia, Romania, ISBN 978-1-5090-1207-7, pp. 45-48, Oct. 10-12, 2016, **WOS:000391323300007**.

[2] **A. Topor**, C. Ravariu, F. Babarada, S. Malin, A. Salageanu, I. Caras, D. Manuc, B. Patrichi, „Hardware and Software Contributions for Optimized Detection of Fluorescent Labeled Citokines”, in Proc. of 40th edition of IEEE International Semiconductor Conference CAS'2017, Oct. 11-14, Sinaia, Romania, pp. 267-270, **WOS:000425844500059**, 2017, <https://ieeexplore.ieee.org/document/8101221>

[3] **A. Topor**, S. Malin, F. Babarada, C. Ravariu, A. Salageanu, I. Caras, D. Manuc, B. Patrichi, „Applications of Images Processing Algorithms for Bacterial Meningitis Diagnosis”, ECAI International Conference – 9th Edition Electronics, Computers and Artificial Intelligence, 29 -30 June 2017, Targoviste, România, Young Researchers session, **WOS:000425865900063**, 2017, <https://ieeexplore.ieee.org/document/8166447>.

[4] Ravariu C., **Topor A.**, Mihaiescu D.E., Manea E., „Bioelectronics and Green Electronics for a clean Environment”, Conference CEST2021, Paper ID: cest2021_00345, Topic: Electric and electronic waste, https://cest.gnest.org/e/cest-2021?room_id=3&date=2021-09-02%2000%3A00%3A00

Publicații sub forma de Capitoare in Carți la Edituri Internaționale

[1] **Alexandru Topor**, Cristian Ravariu, Florin Babarada, Aurora Salageanu, Iuliana Caras, Bogdan Patrichi, „Mobile electronic device and integrated software for cytokines fluorescence detection”, Chapter 6-th in the book: New trends on monitoring and diagnosis for health sciences, Editors Mihaela Badea, Laura Floroian, published by LAMBERT Academic Publishing, trademark of OmniScriptum GmbH & Co. KG, Germany, ISBN 978-3-659-77699-1, pp. 95-112, 2015, <https://www.amazon.com/trends-monitoring-diagnosis-health-sciences/dp/3659776998>.

[2] **Alexandru Topor**, Cristian Ravariu, Florin Babarada, Dumitru Ulieru, „Development of a Mobile Prototype for Diagnosing Tropical Diseases Through University-industry Cooperation”, in Proceedings of REV International Conference of Remote Electronic Virtual, accepted, in press in 2023.

Prezentari la Conferinte Internationale, prezente in programul Conferintei sau in Abstract Book

[1] **A. Topor**, C. Ravariu, „Novel performances of a diamond nano-device with vacuum tunnelling conduction”, 15th European Vacuum Conference (EVC-15), Geneva, Elvetia, 17-22. Iunie 2018. EVC-15 Abstract book, pp. 116-117

[2] **A. Topor**, C. Ravariu, F. Babarada, D Manuc, B. Patrichi, „Novel performances of a diamond nano-device with vacuum tunnelling conduction”, 27th International Conference on Diamond and Carbon Materials, Le Corum, Montpellier, France, 4-8 Sept 2016, P13.16, pp. 18-18, Indexat Elsevier,
https://www.researchgate.net/publication/307464203_Novel_performances_of_a_diamond_nano-device_with_vacuum_tunnelling_conduction.

[3] D. Ulieru, Oana-Maria Ulieru, Xavi Vila, **Alexandru Topor**, „Developing and implementation of a new generation of nanosafety assessment tools”, EURONANOFORUM 2019 Conference, 12-14 June 2019 Paper H04, Bucharest Parliament Palace, Romania.
<http://www.olidigraph.com/stagetwo.php>

[4] D. Ulieru, Oana-Maria Ulieru, Xavi Vila, **A. Topor**, F. Babarada, „Development of non-invasive early diagnosis of tropical diseases”, TROPSENSE BioNanoMed 2019 Conference 15/17 April 2019, Book of Abstract, Graz, Austria,
https://phantomsfoundation.com/NANOBIOMED/2018/Abstracts/NanoBioMed2018_ULIERU_DUMITRU_43.pdf

[5] D. Ulieru, Xavi Vila, Oana-Maria Ulieru, **A. Topor**, „The human eye protection by application of optical limiter devices”, MedTec Exhibition 23-25 May 2019, Nurnberg, Germany.
<http://www.olidigraph.com/stagetwo.php>

[6] D. Ulieru, O.M. Ulieru, X. Vila, **A. Topor**, The Modern Concept of Microsensors/Microsystems Integration at Wafer Level by High Accuracy Micromanufacturing Processes, 4M/ICOMM 2015, 09,
<http://rpsonline.com.sg/proceedings/9789810946098/html/sess5.html>

[7] **A. Topor**, C. Ravariu, F. Babarada, A. Salageanu, I. Caras, „Enhanced Fluorescence Detection Based On Simple Electronic Devices”, 2-nd Edition of Internat.Confer. New Trends on Sensing- Monitoring- Teliagnosis for Life Sciences, Brasov, Romania - September 03-05, 2015, Prezentare Orala, Book of Abstract, Lux Libris Publishing House, ISBN 978-973-131-328-3. pp. 118-119, code KN.4.2.

Brevete și Medalii

[1] Popescu L M, Piticescu R M, Motoc A M, Voinea L M, Gradinaru Istrate S, Ulieru D, **Topor A**, Gradinaru I S L, „Three-dimensional structures used for ocular implants comprises spray-dried hybrid powder comprising hydroxyapatite and polyurethane diol prepared by hydrothermal process, water soluble binders solution, and extrusion bioprinting solution”, Patent Number(s): EP3366319-A1 ; RO132753-A2 ; RO132753-B1 ; EP3366319-B1, 2019, 2020, Derwent Primary Accession Number: 2018-675525.

[2] Popescu L M, Piticescu R M, Motoc A M, Voinea L M, Gradinaru Istrate S, Ulieru D, **Topor A**, Medalie de aur: Salonul Euroinvent 2018 (editia a 10-a), organizat in perioada 17-19 Mai 2018, la Iasi, Romania, unde au obtinut 2 medalii de aur pentru inventii cu aplicatii in medicina (implanturi oculare).

[3] Popescu L M, Piticescu R M, Motoc A M, Voinea L M, Gradinaru Istrate S, Ulieru D, **Topor A**, Medalie de Argint: 46th International Exhibition of Inventions Geneva, Apr 2018

<http://www.icpe-ca.ro/icpe-ca/eng/activity-reports/annual-report-2018.pdf>

6.4 Perspective de dezvoltare ulterioară

Perspectivile de dezvoltare ulterioară sunt motivate de rezolvarea unor probleme cu care se confruntă societatea la nivel global sau regional, constituind întotdeauna elementul motivațional din spatele tuturor acțiunilor întreprinse de către autor. Cum una din problemele cele mai stringente este sănătatea, dorința de a aplica cunoștințele acumulate și de a cerceta metode de a rezolva unele dintre cele mai interesante problematice din domeniul medical utilizând tehnologii moderne, a fost elementul în jurul căruia s-au construit contribuțiile din cadrul proiectelor mai sus menționate și aceasta lucrare.

Proiectele mai sus prezentate și contribuțiile detaliate sunt perfectibile. De asemenea, aceste proiecte se regăsesc în diferite stadii de dezvoltare, situându-se în puncte diferite între modelul teoretic și produsul finit disponibil pe piața pentru a ajuta pacienții. În mod specific, pentru conceptul prezentat în Cap. II, dezvoltarea ulterioară a dispozitivului hardware, a aplicației mobile și îmbunătățirea capacității de diagnostic, permițând un calcul precis al sensibilității și specificității metodei propuse, ar reprezenta următorul pas către productizarea acestui concept, fiind elemente de interes pentru un potențial viitor proiect de continuare a cercetării efectuate până acum.

Tot în acest domeniu, de interes ar fi și studiul comparativ al diferitelor metode aplicate, cât și al metodelor nou apărute în spațiul procesării de imagini și semnale. În o parte dintre aplicații, autorul s-a folosit de intuiția dezvoltată în cadrul experiențelor anterioare, și uneori nu a analizat spectrul complet de modalități și implementări existente pentru rezolvarea unei probleme specifice. O analiză comparativă, calitativă și cantitativă, a metodelor disponibile, va putea rezolva problema găsirii și deciziei

alegerii celor mai bune soluții și combinații de soluții, împreună cu optimizările aferente, pentru a da rezultatele așteptate în fiecare caz în parte.

Un studiu de caz, poate fi realizat și asupra reconstrucției oculare și dezvoltarea ulterioară a rețelei aferente în aplicația DeVide, împreună cu versiunile noi puse la dispoziție de dezvoltatorii aplicației. În prezent, implanturile oculare la scara largă încă au dimensiuni standard, și nu sunt construite pe profilul pacientului, rezultând în rate de respingere mari, pe lângă inconvenientele de natură estetică.

Se urmărește de asemenea, continuarea dezvoltării aplicației GRIPPER_SW_APP.exe, propusă la nivel de prototip în Capitolul 4. Se urmărește posibilitatea scalării aplicației și utilizarea acesteia în scopul asigurării calității și conformității micropensetelor la momentul producției industriale a acestora. Prin îmbogățirea metodelor de procesare de imagini disponibile în aplicație, se poate ajunge la o acuratețe mai ridicată, devenind astfel o alternativă puternică de considerat pentru a efectua caracterizarea gripperului.

Tot un deziderat este și realizarea, în sens larg, la scara mai mare a conceptelor, prototipurilor, și modelelor experimentale prezentate. Cum unele aplicații biomedicale sunt relativ recente și informații noi referitoare la conceptele complementare sunt publicate de la an la an, menținerea acestora la limitele superioare ale tehnologiei va reprezenta un efort continuu de-a lungul timpurilor.

Bibliografie

[16] Chang Che-Han, Chun-Nan Chou and Edward Y. Chang, „CLKN: Cascaded Lucas-Kanade Networks for Image Alignment”, 2017 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR), Honolulu, HI, USA, 2017, pp. 3777-3785, doi: 10.1109/CVPR.2017.402.

[17] Lei Yang, Zhen Qiu, Alan H. Greenaway, and Weiping Lu. „A New Framework for Particle Detection in Low-SNR Fluorescence Live-Cell Images and Its Application for Improved Particle Tracking”, IEEE Transactions on biomedical engineering, vol. 59, no. 7, 2012, pp. 2040-2050.

[18] R. Parton, R. Hamilton, G. Ball, L. Yang, C. Cullen, W. Lu, H. Ohkura, and I. Davis, „A PAR-1-dependent orientation gradient of dynamic microtubules directs posterior cargo transport in the Drosophila oocyte”, J. Cell Biol., vol. 194, no. 1, pp. 121–135, 2011.

[19] L. Yang, R. Parton, G. Ball, Z. Qiu, A. H. Greenaway, I. Davis and W. Lu, „An adaptive non-local means filter for denoising live-cell images and improving particle detection”, J. Struct. Biol., vol. 172, no. 3, pp. 233– 243, 2010.

[20] Jensen K.A., Gaudet V.C., Levine P.M., „Noise analysis and measurement of integrator-based sensor interface circuits for fluorescence detection in lab-on-a-chip

applications”, 22nd IEEE International Conference on Noise and Fluctuations (ICNF), 2013 , pp. 1-4.

[21] Mabaso Matsilele, Withey D.J. and Twala Bhekisipho, „Spot detection methods in fluorescence microscopy imaging: A review. *Image Analysis & Stereology*”, 2018, v. 37, pp. 173, doi: 10.5566/ias.1690.

[22] I. Smal, K. Draegestein, N. Galjart, W. Niessen, and E. Meijering, „Particle Filtering for Multiple Object Tracking in Dynamic Fluorescence Microscopy Images: Application to Microtubule Growth Analysis”, *IEEE Transactions on Medical Imaging*, pp. 789 – 804, doi: 10.1109/TMI.2008.916964

[44] U. Tisch, I. Schlesinger, R. Ionescu, M. Nassar, N. Axelrod, D. Robertman, Y. Tessler, F. Azar, A. Marmur, J. Aharon-Peretz, „Detection of Alzheimer's and Parkinson's disease from exhaled breath using nanomaterial-based sensors”, *Nanomedicine*, 8, 2013, 43-56.

[65] Sumantu Iyer, Maen Alkhader, T. A. Venkatesh, „Electromechanical Response of Piezoelectric Honeycomb Foam Structures”, 2013, doi: 10.1111/jace.12699.

[66] Topor Alexandru, Ulieru Dumitru, Ravariu Cristian, Babarada Florin, „Development of a new one eye implant by 3D bioprinting technique”, *Rev. Roum. Sci. Techn.– Électrotechn. et Énerg.* Vol. 61, Bucharest, 2022.

[67] Popescu L M, Piticescu R M, Motoc A M, Voinea L M, Gradinaru Istrate S, Ulieru D, Topor A, Gradinaru I S L, „Three-dimensional structures used for ocular implants comprises spray-dried hybrid powder comprising hydroxyapatite and polyurethane diol prepared by hydrothermal process, water soluble binders solution, and extrusion bioprinting solution”, Patent Number(s): EP3366319-A1 ; RO132753-A2 ; RO132753-B1 ; EP3366319-B1, 2019, 2020, Derwent Primary Accession Number: 2018-675525.

[69] Topor Alexandru, Voicu Rodica Cristina, Ulieru Dumitru, Ravariu Cristian, Babarada Florin, „Image processing algorithms for characterization of MEMS type micro-tweezers aperture”, *JOAM - Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*.

[70] Roberts Timothy, Mckenna Stephen, Wuyts N, Valentine Tracy and Bengough Anthony, „Performance of Low-Level Motion Estimation Methods for Confocal Microscopy of Plant Cells in vivo”, 2007, *IEEE Workshop on Motion and Video Computing, WMVC 2007*, doi: 10.1109/WMVC.2007.32.

Adrese WEB:

[W1] Proiect PN-II-PT-PCCA (2014-2016) condus de INCDMI Cantacuzino, partener in consortiu ETTI/DCAE/ERG, reprezentat de dl. F. Babarada, echipa de cercetare ETTI/DCAE/ERG compusă din F. Babarada și **A. Topor**

[W3] Proiect MSCA RISE Horizon 2020 (2015-2017) condus de Universitatea Uppsala Suedia, partener in consortiu Sitex45, reprezentat de dl. D. Ulieru, echipa de cercetare Sitex45 compusă din D. Ulieru si **A. Topor**

http://h2020.tropsense.icmpp.ro/en/index_en.php

[W6] Proiect National (2015-2016) condus de UMF Carol Davila, partener in consortiu Sitex45, reprezentat de dl. D. Ulieru, echipa de cercetare Sitex45 compusă din D. Ulieru si **A. Topor**

<https://umfcd.ro/cercetare-si-dezvoltare/proiecte/proiecte-nationale/proiect-orbimplant/>

[W10] „46th International Exhibition of Inventions Geneva”, Apr 2018

<http://www.icpe-ca.ro/icpe-ca/eng/activity-reports/annual-report-2018.pdf>

[W11] Salonul Euroinvent 2018 (editia a 10-a), organizat in perioada 17-19 mai 2018, la Iasi, Romania, unde a obtinut 2 medalii de aur pentru inventii cu aplicatii in medicina (implanturi oculare) - <https://fundatiadanvoiculescu.ro/euroinvent-2018/>

[W12] Proiect ERA-MANUNET-II ROBOGRIP (2014-2016) condus de IMT Bucuresti, partener in consortiu Sitex45, reprezentat de dl. D. Ulieru, echipa de cercetare Sitex45 compusă din D. Ulieru si **A. Topor**