



HAL
open science

RACINE: un système d'analyse multi-images de coupes sériées. Application à la caractérisation de fibres musculaires.

Patrice Buche

► **To cite this version:**

Patrice Buche. RACINE: un système d'analyse multi-images de coupes sériées. Application à la caractérisation de fibres musculaires.. Vision par ordinateur et reconnaissance de formes [cs.CV]. Université de Rennes 1, France, 1990. Français. NNT: . tel-03839480

HAL Id: tel-03839480

<https://hal.science/tel-03839480>

Submitted on 4 Nov 2022

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.

N. d'ordre : 431

THESE

A présenter devant

l'Université de Rennes I
Institut de Formation Supérieure en Informatique et
Communication

Pour obtenir

Le Titre de Docteur de l'Université de Rennes I
Mention INFORMATIQUE

par

Patrice BUCHE

Titre de la thèse

RACINE : Un système d'analyse multi-images de coupes sériées. Application à la
caractérisation de fibres musculaires.

Soutenue le 05/04/90 devant la commission d'examen

MM	Laurent	Kott	Président
	Aimé	Aumaitre	
	Jean	Camillerapp	
	Guy	Lorette	Rapporteur
	Jean-Pierre	Masson	Rapporteur
	Maurice	Milgram	

N. d'ordre : 431

THESE

A présenter devant

I'Université de Rennes 1
Institut de Formation Supérieure en Informatique et
Communication

Pour obtenir

Le Titre de Docteur de l'Université de Rennes I
Mention INFORMATIQUE

par

Patrice BUCHE

Titre de la thèse

RACINE : Un système d'analyse multi-images de coupes sériées. Application à la
caractérisation de fibres musculaires.

Soutenue le 05/04/90 devant la commission d'examen

MM	Laurent	Kott	Président
	Aimé	Aumaitre	
	Jean	Camillerapp	
	Guy	Lorette	Rapporteur
	Jean-Pierre	Masson	Rapporteur
	Maurice	Milgram	

UNIVERSITE de RENNES I

U.E.R. SCIENCES et PHILOSOPHIE

DOYENS HONORAIRES

M. LE MOAL H.
M. MARTIN Y.
M. BOCLE J.

PROFESSEURS HONORAIRES

M. FREYMANN R.
M. ROHMER Y.
M. SALMON-LEGAGNEUR F.
M. VALET P.
M. PHILIPPOT A.
Mlle CHARPENTIER M.
M. VACHER M.
M. VILLERET S.
M. ORTIGUES E.

M. LE MOAL H.
Mlle DURAND S.
M. LE BOT J.
M. MARTIN Y.
M. RAZET P.
M. MAILLET P.
M. ALLEGRET P.
Mlle GOAS M.
Mlle GOAS G.
M. CLAUSTRES G.
M. FOLLIOU R.
M. MEVEL J.

MAITRES de CONFERENCES HONORAIRES

Mlle HAMON M.R.

MATHEMATIQUES

Professeurs

M. BERTHELOT P.
M. CALOZ G.
M. CAMUS J.
M. CERVEAU O.
M. CONZE J.P.
Mme COSTE-ROY M.F.
M. CROUZEIX M.
M. DESHAYES J.
M. FERRAND D.
M. GIORGIUTTI I.
M. GUERINDON J.
M. HENNION H.
M. HOUEBINE J.
M. MAHE L.
M. MEMIN J.
M. METIVIER G.
M. MIGNOT A.
M. MORET-BAILLY L.
M. PETRITIS D.
M. RAUGI A.
M. TOUGERON J. Cl.
M. TOURNEMINE G.
M. WOLF J. (ENSAT L.)
M. LERNER N.

Habilités

M. MERRIEN J.
M. PERRIN G.
Mme TOUGERON M.

Docteurs d'Etat

M. BOSSARD Y.
M. GRAVEREAUX J.B.

INFORMATIQUE

Professeurs

Mme ANDRE F.
M. KOTT L.
M. LENFANT J.
M. LERMAN I.
M. MARIE R.
M. RAOULT J. C.
M. RAYNAL M.
M. SEGUIN J. (ENSSAT L.)
M. BOSCH P. (ENSSAT L.)
Mme CORDIER M.O.
M. JALBY W.
M. HELARY J.M.
M. LORETTE G.
M. DIVAY M. (IUT L.)

Habilités

M. BOUATOUCH K.

Docteurs d'Etat

M. TALLUR B.
Mme MORIN A.M.

CHIMIE

Professeurs

M. BARIOU B. (IUT R.)
M. BOTREL A. (ENSCR)
M. BRAULT A. (IUT R.)
M. CARRIE R.
M. DABARD R.
M. DIXNEUF P.
M. FOUCAUD A.
M. GRANDJEAN D.
M. GUERILLOT Cl.
M. HAMELIN J.
M. LAURENT Y.
M. LE CORRE M.
M. LE GUYADER M.
M. LISSILOUR R.
M. LUCAS J.
M. MARTIN G. (ENSCR)
M. MAUNAYE M. (ENSCR)
M. PATIN H. (ENSCR)
M. ROBERT A.
M. SARRAZIN J.C.
M. SOYER N. (IUT R.)
M. TALLEC A.
M. VERDIER P. (IUT R.)

M. CAREL Cl.
M. DANION D.
M. DARCHEN A. (ENSCR)
M. GUERIN P. (ENSCR)
M. MOINET Cl.
M. POULAIN M.
M. LE GUYADER J.
M. SAILLARD J.Y.
M. DORANGE G. (ENSCR)

M. CARO B. (IUT L.)
M. PRIGENT Y. (IUT R.)

Habilités

M. CAILLET P.

M. JOUCLA M.
M. LAPLANCHE A. (ENSCR)

M. PRIGENT Y. (IUT R.)

M. TONNARD F. (IUT R.)

Docteurs d'Etat

M. AUFFREDIC J.P.
Mme BARS née BEAULIEU
Mme DANION née BOUGOT
Mme LE ROUZIC née
BELLEVRE (ENSCR)
Mme TEXIER née BOULLET
M. BROCHU R.

Mme POMMERET née
CHASLE (IUT R.)
M. CORRE F.

M. FAYAT Ch.
M. GADREAU Cl.
M. GAUDE J.
Mme LOUER née GAUDIN
M. GUILLEVIC J.
M. HAZARD R.
M. HERCOUET A.
Mme PAPILON née JEGOU
(IUT R.)
M. LEBORGNE G.
M. LE COQ A.
M. LE FLOCH Y (ENSCR)
Mme UTJES née LE GALL
Mme RIVET née
LE GUELLEC
Mlle LE PLOUZENNEC M
M. MARTELLI J.
M. MEYER A.

M. MORVAN J (ENSCR)
M. PERSON H.
Mme de COURVILLE
née PICHEVIN A.
M. PICOUAYS B.
M. PLUSQUELLEC D.
(ENSCR)
M. POCHAT F.
M. RAOULT E.
M. RAPHALEN D (ENSCR)
M. RAULET Cl.
Mme CARLIER née
ROLLAND (IUT R.)

Mme TEXIER Fr.
M. VENIEN F. (ENSCR)
M. BOUTRY J.L. (ENSCR)
Mlle LARPENT C. (ENSCR)
M. LE CLOIREC P. (ENSCR)

PHYSIQUE

Professeurs

M. ARQUES P.Y.
M. BARON A. (IUT R.)
M. BENIERE F.
M. BERTEL L.
M. BRUN P.
M. CAILLEAU H.
M. COLIN Y. (IUT R.)
M. CORAZZA M. (ENSSAT L.)
M. DANIEL J.P.
M. DECAMPS E.A.
M. DUBOST G.
M. DURAND A.
M. FOUCHE G. (IUT R.)
M. FUCHS J.J.
M. GROSVAUD (IUT R)

M. GUIDINI J.
M. HAEUSLER C1.
M. JOUBERT P. (IUT L.)
M. LE FLOCH A.
M. LE MEN J.F. (IUT L.)
M. LEROUX EX
M. LE TRAON A.
M. LEVASSEUR M. (IUT R.)
M. MALHERBE J.C. (ENSSAT L.)

M. MEINNEL J.
M. NUSIMOVICI M.
M. RIAUX E. (IUT R.)
M. STEPHAN G. (ENSSAT L.)
M. TERRET C1.
M. THOMAS G.
M. VEZZOSI G.
M. BONNAUD O.
M. BERTHAULT M.
M. BIDEAU D.
M. JEZEQUEL G.
M. LE DOUCEN R.

Habilités

M. COATRIEUX J.L.
M. CHARBONNEAU G.
M. COLLOREC R. (IUT R.)
M. ECOLIVET C.
M. GIRARD A.
M. LANGOUET L.
M. MESSENGER J.C.
M. PILET J.C.

Docteurs d'Etat

M. ANDRIAMIRADO (IUT L.)
M. BALCOU Y.
M. BERNARD D.
M. BESNIER G.
M. BOULIOU A.
M. CHAGNEAU (IUT R.)
Mme COUSIN C.
M. BOULIOU A.
M. CLEC'H G. (IUT L.)
M. DAUDE A.
M. DEFRANCE A.
M. FORTIN B. (IUT R.)
M. DEFRANCE A.
M. GOMET J.C.
M. GOULPEAU L.
M. HAGENE B.
Mlle HAGENE M.
M. HOUDEAU J.P.
M. JEZEQUEL G.

M. LARVOR M.
M. LE BLOA A. (IUT R.)
M. LE CLEAC'H (IUT L.)

M. LE COMTE A.
M. LE DOUCEN R.
M. LENORMAND J. M.

M. POEY P.
M. PRIOL M.
M. QUEFFELEC J. L.
M. RABACHE P. (IUT L.)
M. RAOULT F. (IUT R.)
M. REBOURS B. (IUT L.)
M. RIYET Y. (IUT L.)
M. SEIGNAC A.
M. TANGUY P.
M. TACHE D.
M. THOUROUDE D.
M.T'KINT de ROODENBEKE
A. (IUT R.)
Mme T'KINT de RRODENBEKE
M. (IUT R.)
M. TROADEC JP (IUT R.)

Docteurs d'Université

GEOLOGIE

Professeurs

M. BRUN J.P.
M. CHAUVEL J.J.
M. CHOUKROUNE P.
M. HAMEURT J.
M. JAHN B.M.
M. LARDEUX H.
M. WILLAIME Ch.

M. AUVRAY B.
M. FOURCADE S.
M. GILET Ph.

Habilités

M. MARTIN H.

Docteurs d'Etat

M. BLAIS S.
Mme ESTEOULE née CHOUX
M. COGNE J. P.

M. HENRY J.L.
Mme MORZADEC
née KERFOURN
M. LAGARDE J. L.
M. LE CORRE Cl.
M. LEFORT J.P.
M. MORZADEC P.
Mme OLLIVIER née PIERRE

PHILOSOPHIE

Professeurs

M. CLAIR A.
M. FOLSCHIED D.
M. NEF F.
M. VETO M.

Habilités

Docteurs d'Etat

BIOCHIMIE - BIOLOGIE CELLULAIRE et MOLECULAIRE

Professeurs

M. BLANCO C.
M. BOISSEAU C.
M. DUVAL J.
M. GOURANTON J.
M. JEGO P.
M. JOLY J.M.
M. KERCRET H.
M. LE PENNEC J.P.
M. PHILIPPE M.
M. VALOTAIRE Y.
M. WROBLEWSKI H.

Habilités

M. JEGOU B.

Docteurs d'Etat

M. COILLOT J.P.
M. GOURRET J.P.

M. HAMON Cl.

M. LE GUELLEC R.
M^e LE GUELLEC C.

PHYSIOLOGIE - BIOLOGIE des ORGANISMES et des POPULATIONS

Professeurs

M. BARBIER R.
M. CALLEC J.J.
M. CITHAREL J.
M. DAGUZAN J.
M. GAUTIER J.Y.
M. HUON A.
M. LARHER F.
M^{me} LEMOINE C.
M. NENON J.P.
M. TOUFFET J.L.
M. TREHEN
M. WEBB D.

Habilités

Docteurs d'Etat

M. BERNARD J.
M. BERNARD Th.
M. BERTRU G.
M. BRIENS M.
M. CANARD A.
M. CHAUVIN G.
M. CLEMENT B.
M. COILLOT J.P.
M. DENIS Ch.
M^{lle} FORGEARD F.
M. GLOAGUEN J.Cl.
M. GOURRET J.P.
M. GUILLET J. Cl.
M. GUYOMARC'H J. Ch.
M^{me} HUBERT née GUERGADY
M. LE GARFF B.
M. MICHEL R.
M^{me} RICHARD M.A.
M^{lle} ROZE F.
M. SAVOURE B.

PERSONNEL C.N.R.S.

Directeurs de Recherche

Habilités

Docteurs d'Etat

MATHEMATIQUES

INFORMATIQUE

M. QUINTON P.

M. DARONDEAU P.

M. BASSEVILLE M.

CHIMIE

M. CHEVREL R.
M. DENIS J.M.
M. COEURET (ENSCR)
M. GREE R. (ENSCR)
M. LOUER D.
M. SERGENT M.
M. SIMONET J.

M. LAPINTE CL.
M. SIMONNEAUX G.

M. DEMERSEMAN B.
Mme BAUDY née FLOC'H
M. FONTENEAU G.
M. GUYADER J.
M. HAMON J.R.
M. HERCOUET A.
M. LE BOZEC H.
M. MARCHAND R.
M. MARTIGNY P.
M. MATECKI M.
M. MOREL G.
M. NOEL H.
M. PADIOU J.
M. PENA O.
M. PERRIN A.
Mme PERRIN C.
M. POTEI M.
Mme RAULT-BERTHELOT
M. VAULTIER M.

PHYSIQUE

M. DANG TRAN Q.
M. SANQUER M.
M. TOUDIC B.

GEOLOGIE

M. CAPDEVILA R.
M. COBBOLD P.

M. BERNARD-GRIFFITHS J
M. PARIS F.I.
M. PEUCAT J.J.
M. ROBARDET M.

ANTHROPOLOGIE

M. BRIARD J.

M. MONNIER J.C.

BIOLOGIE CELLULAIRE et GENETIQUE

Mlle GARNIER D.

M. OSBORNE B.

M. CHARBONNEAU M.
M. THIEULAND M. L.
M. THOMAS Daniel

BIOLOGIE des ORGANISMES

Mme GAUTIER A.
M. GAUTIER J. P.
M. VANCASSEL R.

Mme BAILLIOT-DELEPORTE S.
Mme CLOAREC A.
Mme DELORTE S.
M. DELETTRE Y.
Mlle RIVAULT C.
Mlle EYBERT M.

M. VIDAL J.M.

Docteurs d'Université

CHIMIE

M. BONDON A. (ENSCR)
Mme GUERCHAIIS V. (ENSCR)

Remerciements

Je remercie Laurent Kott, directeur de l'IRISA, de présider ce jury de thèse et d'avoir contribué au développement de l'analyse d'images numériques sur le centre agronomique de Rennes en accueillant le laboratoire de Recherches de la Chaire de Mathématique-Informatique de l'ENSAR au sein du pôle FIRTECH.

Jean Camillerapp, professeur à l'INSA, a dirigé cette thèse. Tout au long de ce travail, il m'a judicieusement conseillé. Toutes ses remarques fécondes m'ont permis d'améliorer la présentation de ce document tant au niveau du fond que de la forme. Je lui adresse tous mes remerciements.

Jean-Pierre Masson, professeur à l'ENSAR, m'a soutenu dans les démarches entreprises pour créer une activité en analyse d'images à la Chaire de Mathématique-Informatique. Il m'a maintes fois encouragé, conseillé, m'a fourni d'excellentes conditions de travail et a accepté d'être rapporteur de cette thèse. Pour toutes ces raisons, je lui témoigne ma reconnaissance.

J'adresse tous mes remerciements à Guy Lorette, professeur à l'IFSIC, qui a eu la gentillesse d'accepter d'être rapporteur.

Aimé Aumaitre, chef du Département de Recherches INRA sur l'élevage des Monogastriques, a soutenu avec enthousiasme le projet présenté dans cette thèse et a accepté de faire parti de ce jury. Je lui en exprime ma reconnaissance.

Je remercie Maurice Milgram, professeur à l'Université de Paris VI, de participer au jury de cette thèse.

Claude Millier, chef du Département Informatique de l'INRA, s'est intéressé à ce travail et en a permis la réalisation dans de bonnes conditions. Pour toutes ces raisons, je lui adresse mes remerciements.

Louis Lefaucheur, chargé de recherches à la Station Porcine de St-Gilles, a été l'initiateur de ce projet. Sa disponibilité permanente et son sens de la collaboration ont contribué de façon déterminante à l'aboutissement de cette thèse. Je lui en témoigne toute ma reconnaissance.

Enfin, j'ai apprécié la disponibilité et la sympathie des membres de la Chaire de Mathématique-Informatique de l'ENSAR et du Laboratoire de Biométrie INRA de Rennes et je remercie en particulier les stagiaires que j'ai encadrés durant ces deux dernières années, Pierre Mauclair, Emmanuel Ricros et Philippe Loret, pour les bonnes relations de travail que j'ai pu avoir avec eux.

Introduction

La contribution de cette thèse s'inscrit dans le cadre général de la caractérisation objective et automatisée de cellules vivantes en fonction de paramètres morphologiques et biochimiques observés au microscope optique. Nous nous sommes plus particulièrement intéressés au typage des fibres du muscle strié squelettique par analyse d'images numériques.

Le muscle Le muscle est composé de fibres (75 à 90 % du volume musculaire) et de plusieurs tissus (conjonctif, adipeux, vasculaire et nerveux). Les fibres musculaires sont des cellules allongées pouvant atteindre plusieurs centimètres de long et de 20 à 100 μm de diamètre. Elles contiennent l'appareil contractile constitué par la structure myofibrillaire. Un muscle renferme plusieurs milliers de fibres disposées parallèlement les unes à côté des autres. Les fibres constitutives d'un muscle ne sont pas toutes identiques et peuvent être classées par histoenzymologie en types I, IIA, IIB et IIC [Brooke70] en fonction de la sensibilité de l'ATPase myofibrillaire à différents pH (4,10; 4,35; 10,4). Le typage d'une fibre nécessite donc l'intégration de plusieurs informations obtenues sur des coupes contiguës réalisées perpendiculairement à l'axe d'allongement des fibres. On parle alors d'un jeu de coupes sériées (voir figure .1). De cette manière, on retrouve sur chaque coupe sériée une section transversale de chacune des fibres présentes dans l'échantillon du muscle. Ces coupes sont réalisées en utilisant des techniques histologiques.

Techniques histologiques L'expérimentateur prélève un échantillon de muscle ($0,5 \times 0,5 \times 1cm$) dans le sens des fibres musculaires. L'échantillon est ensuite rapidement congelé puis stocké à $-80^{\circ}C$ jusqu'aux analyses.

Des coupes sériées de 10 μm d'épaisseur sont réalisées à l'aide d'un microtome à congélation ($-20^{\circ}C$) et placées sur des lamelles en verre. Chaque coupe subit alors une coloration particulière. Les colorations peuvent être classées en trois catégories :

- **La coloration de référence** : Les coupes sont traitées par un colorant (vert lumière ou azorubine) permettant de colorer les fibres en vert ou en rouge et de laisser l'interfibres incolore (voir figure .2). Cette coloration est destinée à délimiter les fibres, donc à extraire le réseau interfibres.
- **Les colorations de typage** : Le typage des fibres selon la classification de [Brooke70] nécessite trois coupes sériées. Chaque coupe est traitée par une coloration qui révèle l'activité ATPasique myofibrillaire après une préincubation à un pH fixé respectivement à 4,10; 4,35 et 10,4 (voir les figures .3, .4, .5).
- **Les colorations paramètres** : Sur des coupes sériées supplémentaires, il est possible de révéler la présence de différents composants chimiques (métabolites, enzymes) afin d'en étudier la teneur en fonction des types de fibres. Dans notre étude, nous avons utilisé la coloration du glycogène en raison de son importance dans la détermination de la qualité de la viande (voir figure .6).

Objectif du biologiste L'objectif du biologiste est de déterminer les pourcentages et les aires de section transversale de chaque type de fibre, ainsi que la valeur des colorations paramètres en fonction des types de fibres.

Le problème posé Pour obtenir l'ensemble de ces paramètres à partir des coupes histologiques, il faut résoudre deux problèmes : le problème de l'individualisation des fibres et le problème du suivi des fibres d'une coupe à l'autre afin de mettre en correspondance les paramètres décrivant une même fibre sur les différentes coupes.

Nous proposons un nouvel outil, basé sur l'utilisation de l'analyse d'images numériques, apportant une solution aux problèmes de l'individualisation et du suivi des fibres, qui permet au biologiste de caractériser quantitativement le muscle à partir des informations histologiques.

Dans la suite de cette introduction, nous analysons les méthodes employées par les biologistes en essayant de dégager les goulots d'étranglement et nous situons notre travail par rapport à la bibliographie.

Les méthodes utilisées A notre connaissance, il est possible de répertorier les méthodes utilisées jusqu'à présent en trois catégories:

- les méthodes qualitatives manuelles
- les méthodes quantitatives manuelles
- les méthodes quantitatives semi-automatiques.

Les méthodes qualitatives manuelles [Vigneron76], [Lacourt81], [Suzuki80] sont les plus lourdes à mettre en oeuvre. Le biologiste utilise un microscope du type Visopan qui restitue sur un petit écran circulaire (de 15-20 cm de diamètre) un champ de la coupe histologique analysée. Il visualise une coloration de référence et délimite manuellement les fibres sur du papier calque. Par la suite, il superpose le papier calque sur une coloration de typage visualisée sur le Visopan. Cette opération d'affectation d'un type à chaque fibre repose sur un critère de comparaison visuelle des degrés de coloration des fibres. Le nombre d'échantillons analysés est forcément limité et les résultats obtenus sont subjectifs car ils sont basés sur une comparaison visuelle.

Les méthodes quantitatives manuelles Le problème de l'individualisation des fibres pour calculer leur aire est résolu de manières diverses.

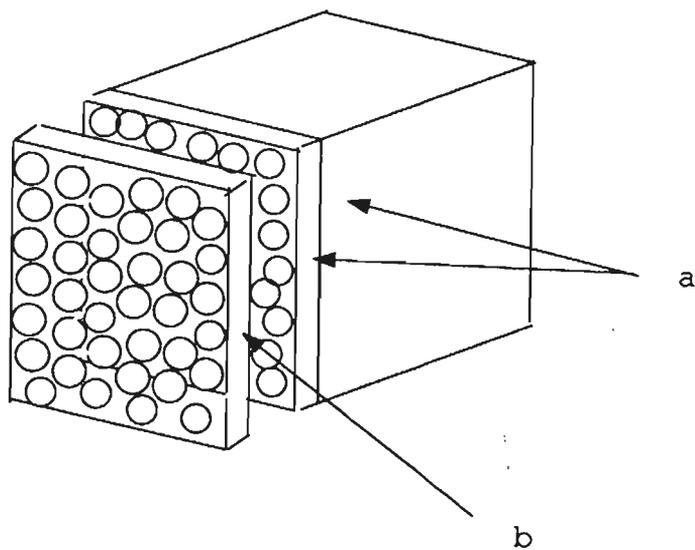


Figure .1 : Un jeu de coupes s eries : (a) coupes pour les colorations de typage et paramètres, (b) coupe pour la coloration de référence

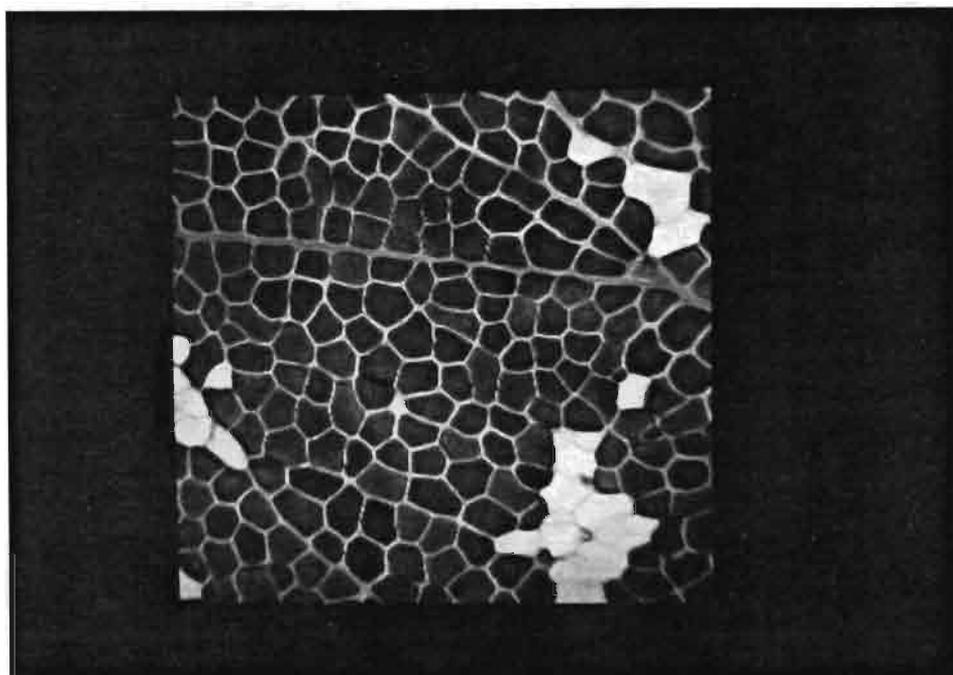


Figure .2 : Coloration de référence

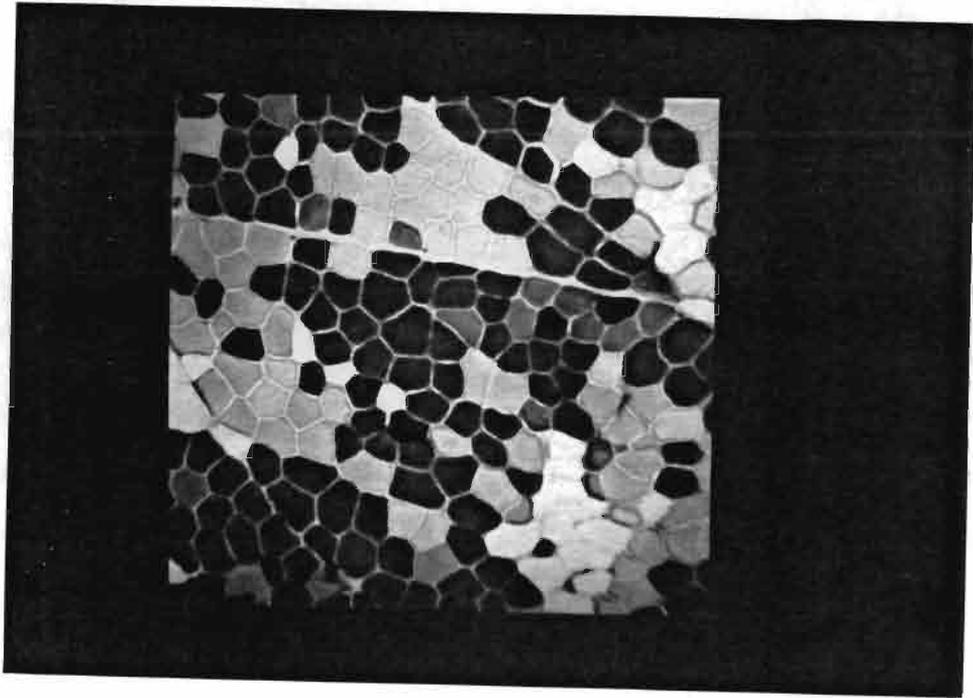


Figure .3 : Coloration de typage ATP pH 4,10

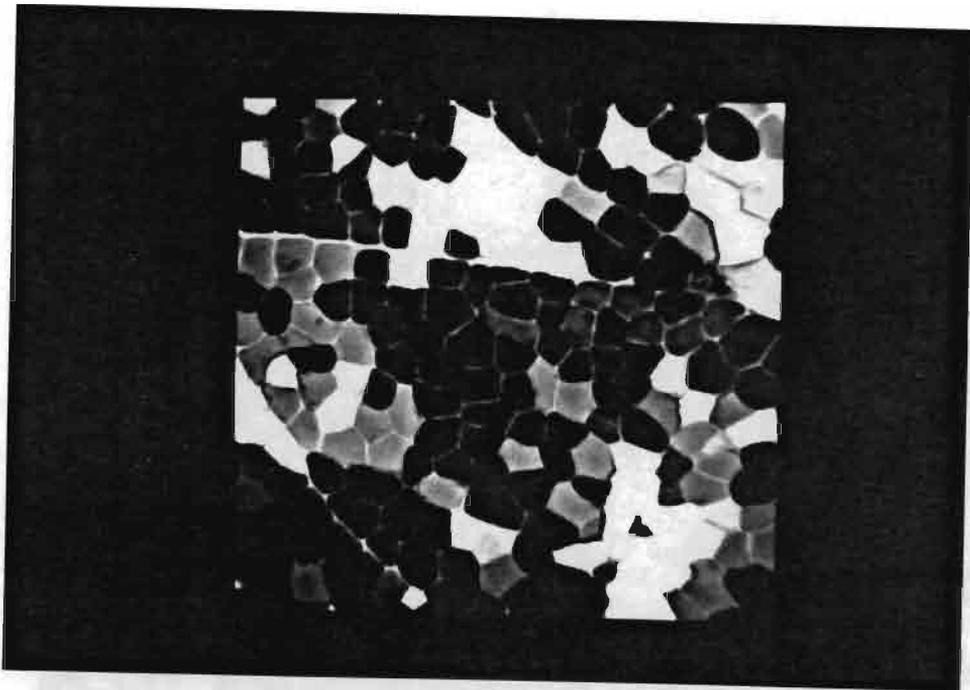


Figure .4 : Coloration de typage ATP pH 4,35

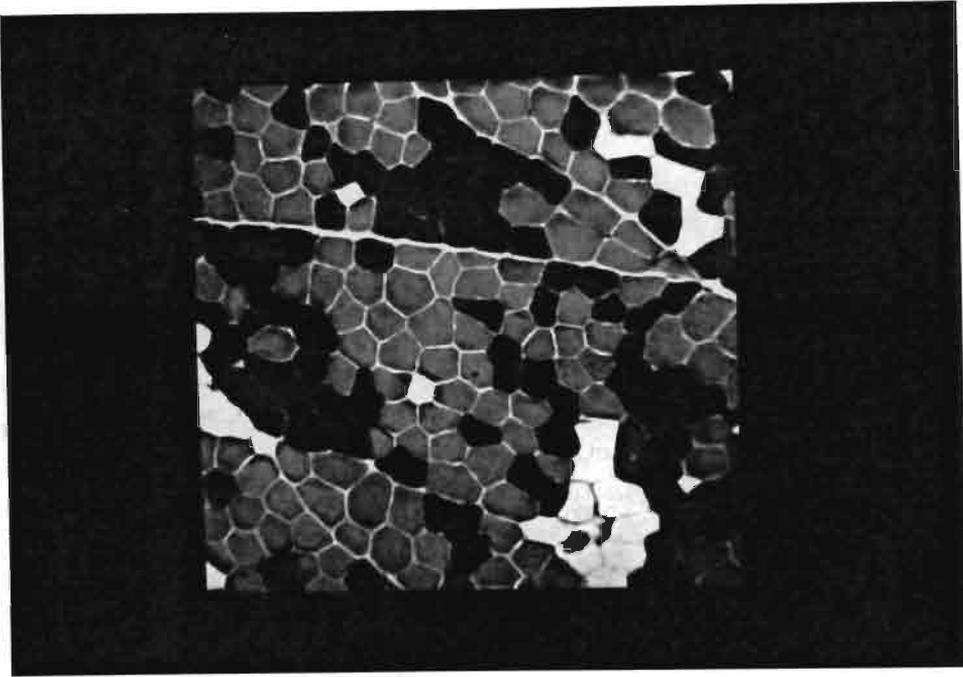


Figure .5 : Coloration de typage ATP pH 10,4

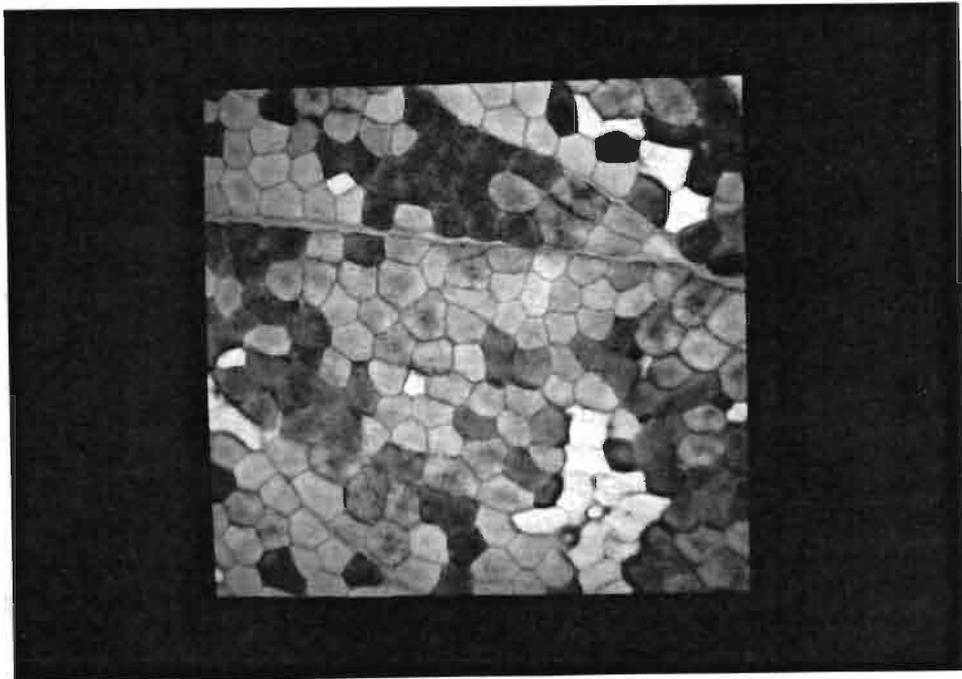


Figure .6 : Coloration de type paramètre : le glycogène

Une première méthode consiste à découper avec des ciseaux sur une photographie d'une coloration de typage chaque fibre. La fibre est pesée et cette information est ensuite convertie en surface (une procédure de calibration ayant permis d'établir une relation poids-surface).

Une seconde méthode consiste à délimiter les contours des fibres sur une photographie posée sur une table à digitaliser. Celle-ci est reliée à un système qui effectue automatiquement le calcul [Altman81], [Dudley83], [Wong83].

Ces deux types de méthodes sont utilisées pour quantifier les surfaces mais le typage repose toujours sur un jugement visuel.

D'autres méthodes sont utilisées lorsque l'on cherche à rendre plus objectif le typage [Pool79], [Nemeth79], [Nemeth81], [Spurway81], [Reichman82], [Swatland83], [VanDerLaerse83], [Bye89]. L'intensité de la coloration (critère utilisé pour le typage) est mesurée avec un système photométrique : un spectrophotomicroscope. Ce système mesure la densité optique sur une fibre. La surface explorée pour le calcul varie entre 10 et 25 μm de diamètre. Ces méthodes permettent de quantifier l'information désirée mais elles restent tout de même très lourdes à mettre en oeuvre car il faut réitérer l'opération de mesure manuellement pour chaque fibre. Les échantillons analysés sont petits : 59 fibres dans [Bye89] par exemple. Les ambitions statistiques de telles études sont donc assez limitées.

Il paraît intéressant d'essayer d'automatiser au maximum ces opérations de délimitation du contour des fibres et de mesure de l'intensité de coloration. Plusieurs travaux ont été menés dans cette direction et font appel à la technologie de l'imagerie numérique. Nous avons regroupé ces études dans les méthodes quantitatives semi-automatiques.

Les méthodes quantitatives semi-automatiques [Jain80], [Bohineust81], [Ranft83], [Denizon86], [Henckel89], le système photométrique est remplacé par un capteur (de type caméra CCD) placé sur la sortie photo du microscope. De cette manière, on peut obtenir une image numérisée d'un champ de la coupe observée. L'espace de représentation en entrée de la chaîne de traitement est une matrice (par exemple 512×512 points) dont chaque élément (appelé pixel) code sur l'intervalle [0-255] l'intensité lumineuse captée par la caméra sur le champ observé.

Pour délimiter les fibres sur l'image numérique, Bohineust et Denizon proposent tous les deux une méthode de segmentation sur image multi-niveaux de gris.

Bohineust propose un algorithme basé sur la théorie de la morphologie mathématique [Serra82], [Coster85]. Son approche est intéressante mais elle nécessite de fixer de manière arbitraire un seuil de binarisation d'une image des gradients. Ranft se

heurte au même problème.

Denizon propose un algorithme basé sur l'analyse structurale des lignes et des colonnes de l'image des niveaux de gris. Mais il est également confronté au problème de la détection des contours et il est obligé de fixer arbitrairement un seuil de rupture.

Ces auteurs n'abordent pas le problème du suivi des fibres. Nous reparlerons de façon plus précise de ces algorithmes dans la première partie de ce document afin de dégager l'apport original de notre approche.

Henckel est le seul auteur qui aborde les deux problèmes. Il propose une palette d'outils pour réaliser interactivement la segmentation plutôt qu'un algorithme très précis. Il propose une fonction de seuillage interactive, une fonction de squelettisation, une fonction d'ébarbulage et un curseur crayon/gomme pour corriger les erreurs dans le réseau des fibres. Il traite le problème du suivi des fibres en travaillant sur des champs assez petits (50 fibres en moyenne). Il prend pour hypothèse qu'il n'y a pas de distorsion importante du réseau à cette échelle. Le réseau de fibres extrait avec la palette d'outils est stocké dans un plan graphique. Une coloration à recalculer est alors placée sous l'objectif du microscope et la carte image est configurée en numérisation continue. De cette manière, en déplaçant la coupe sur le plateau du microscope, on recalcule visuellement la restitution vidéo du champ de la coupe en cours de numérisation sur le réseau de fibres stocké dans le plan graphique.

Position de notre travail par rapport aux méthodes existantes Dans cette thèse, nous proposons une nouvelle méthode quantitative semi-automatique. Notre méthode réalise la délimitation des fibres et le suivi des fibres sur des champs relativement importants (de 130 à 300 fibres). L'intervention manuelle se limite à un rôle de validation (et de correction le cas échéant) à la fin de chaque étape des processus d'individualisation des fibres et de recalage des colorations. Le degré d'automatisation de notre méthode nous a permis de réaliser une expérimentation sur un échantillon de 10000 fibres environ.

Notre méthode a été implémentée dans un logiciel baptisé RACINE (Réseaux Animaux Calculés par Imagerie Numérique) qui réalise le cahier des charges que nous avons élaboré avec Louis Lefaucheur, biologiste spécialiste du muscle, chercheur à la Station Porcine INRA de St-Gilles.

La recherche d'une méthode de résolution nous a amené à la décomposition du problème en deux phases majeures qui font l'objet de développements dans ce document :

- Le problème de l'individualisation des fibres sur les colorations traitées et les solutions que nous avons élaborées sont présentées dans la première partie. Les objectifs que nous nous sommes fixés sont d'une part d'individualiser chaque fibre sur la coloration de référence et d'autre part d'extraire suffisamment d'informations structurelles sur les colorations à recalculer pour y effectuer le suivi des fibres.
- Le problème du suivi des fibres de l'image de coloration de référence sur les images de colorations à recalculer est traité dans la deuxième partie. Le suivi doit permettre de situer le barycentre de chaque fibre, calculé sur la coloration de référence, à l'intérieur de la fibre sur la coloration à recalculer. Ce recalcul est suffisant car nous avons juste besoin d'évaluer la luminosité moyenne autour du barycentre.

Le logiciel RACINE est destiné à être utilisé dans plusieurs laboratoires de l'INRA (Rennes, Clermont-Ferrand, ...) par des biologistes non spécialistes de l'informatique et de l'analyse d'images numériques. Par conséquent, le parti pris de cette thèse est d'aller jusqu'à la réalisation intégrale d'un logiciel *clé en main*. Aujourd'hui, le logiciel RACINE est opérationnel. Nous avons développé une interface utilisateur qui facilite la conduite d'une expérimentation en rendant transparente la gestion des programmes et des données. Cette interface et les performances de RACINE sont présentées dans une troisième partie.

Afin d'évaluer l'apport de notre méthode, nous avons effectué une première expérimentation en vraie grandeur destinée à comparer les caractéristiques histologiques de deux muscles et à étudier la dégradation post-mortem du glycogène selon les différents types de fibres dans le muscle de porc. Dans cette étude, nous nous sommes attachés à contrôler la cohérence des informations générées par l'analyse d'images avec les autres sources d'informations disponibles. Les résultats sont présentés dans la quatrième partie.

Le travail central de cette thèse consiste à rechercher et à développer des méthodes d'extraction de primitives (partie 1) et de mise en correspondance d'images (partie 2). Dans ces développements, nous nous attacherons à intégrer les résultats méthodologiques récents en analyse d'images pour obtenir un logiciel le plus automatique et le plus performant possible.

Première Partie

Individualisation des fibres

Dans cette partie, nous abordons le problème de l'individualisation des fibres.

Nous commençons par définir l'information présente dans les images de coloration (chapitre 1). Puis, dans une étude bibliographique, nous essayons de cerner les méthodes d'analyse d'images permettant de résoudre le problème de l'individualisation (chapitre 2). Nous présentons ensuite l'algorithme que nous avons développé pour individualiser les fibres sur la coloration de référence (chapitre 3). Afin d'automatiser la procédure de suivi des fibres, nous avons développé un algorithme d'extraction de l'information structurelle sur les colorations à recaler (chapitre 4).

En conclusion, nous évaluons ces solutions en présentant les résultats obtenus après une validation quantifiée et en discutant des améliorations possibles (chapitre 5).

Chapitre Premier

Délimitation du problème à résoudre

Pour résoudre le problème de l'individualisation des fibres, il faut tout d'abord décrire l'objet analysé, le muscle, l'information structurelle disponible sur une coupe puis l'information structurelle qui est visible sur les deux types de colorations traitées (coloration de référence et coloration à recaler).

I.1 Description du muscle

La majorité des muscles ([Lepetit85]) se présentent sous forme d'un fuseau entouré par une "couche" de tissu conjonctif appelé aponévrose ou épimysium et terminé aux extrémités par les tendons, points d'insertion des muscles sur les os. L'aponévrose se ramifie à l'intérieur du muscle pour donner le périmysium, qui compartimente le muscle en faisceaux de plus en plus fins. La ramification se termine au niveau de chaque cellule, ou fibre musculaire, qui est entourée par l'endomysium (voir figure I.1)

Le tissu conjonctif, dont le rôle *in vivo* est de transmettre les efforts, est composé principalement de collagène, protéine très résistante et peu extensible. La fibre musculaire contient l'appareil contractile constitué par la structure myofibrillaire (voir figure I.2).

I.2 Information structurelle sur une coupe

Les coupes sont réalisées perpendiculairement à l'axe d'allongement des fibres (cf figures I.3 et I.4). Sur une coupe on observe des sections de fibres de forme relativement polygonale. L'information structurelle disponible est l'ensemble des frontières

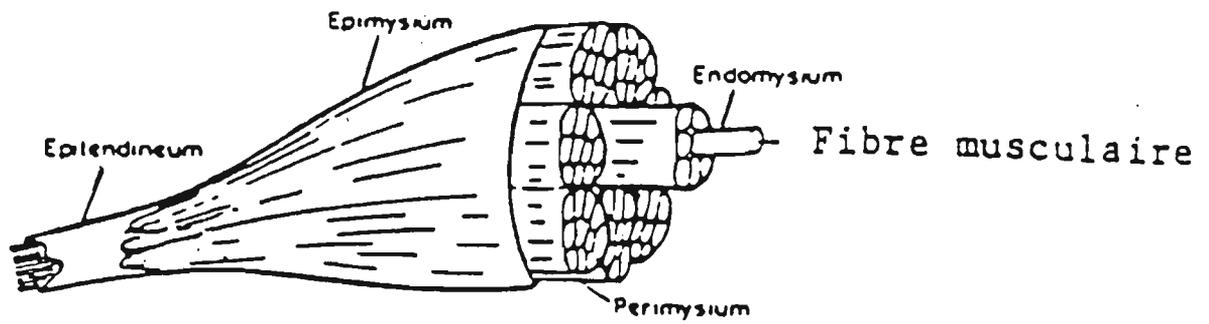


Figure I.1 : Le muscle

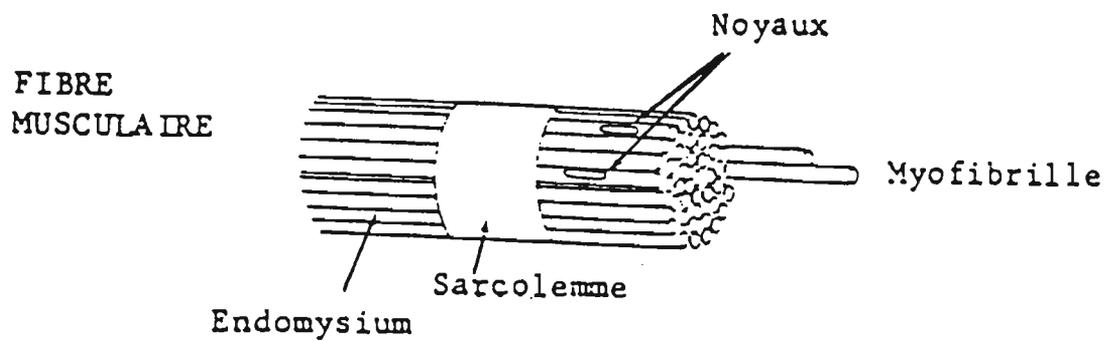


Figure I.2 : La fibre musculaire

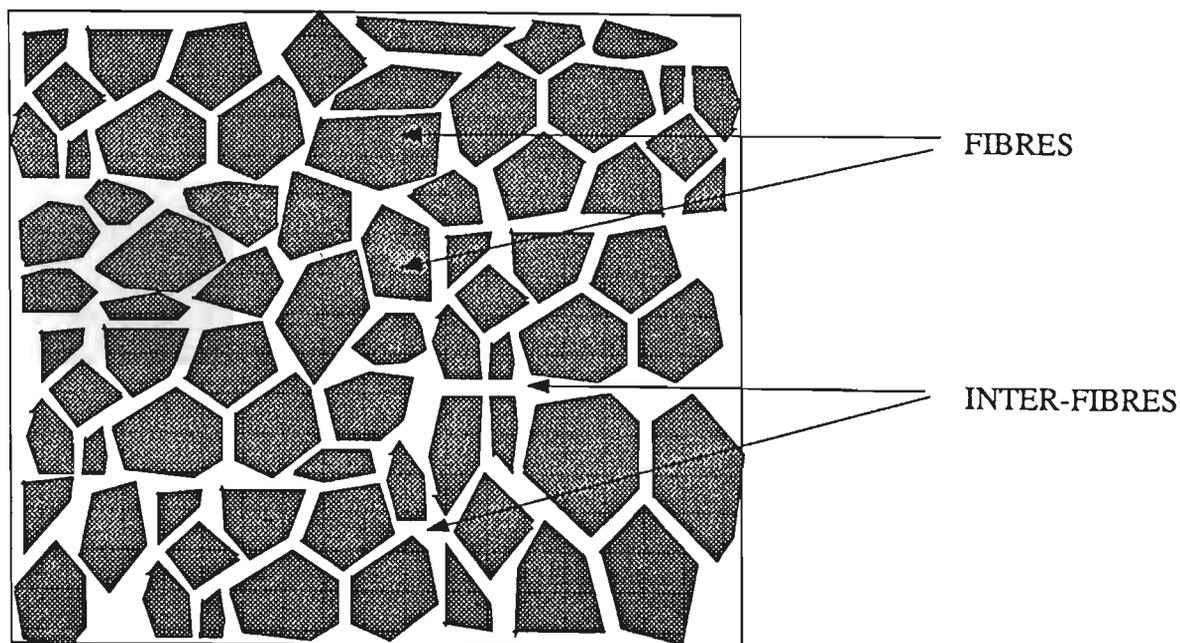


Figure I.3 : Le réseau inter-fibres dans la coloration de référence

entre fibres, appelé par la suite réseau inter-fibres. Le réseau inter-fibres est coloré de manière différente selon le type de coloration traitée.

I.3 Réseau inter-fibres sur la coloration de référence

Sur la coloration de référence, on utilise un colorant qui met en évidence le réseau inter-fibres. Sur l'image numérique associée (présentée schématiquement en figure I.3), que nous appellerons par la suite coloration de référence, le réseau est une composante connexe de grande taille¹, constituée de branches relativement fines, s'interconnectant entre elles. Ces branches se distinguent assez bien du fond et leur luminance est forte, en d'autres termes, les branches apparaissent en blanc sur l'image. Enfin, on supposera que l'éclairement est sensiblement homogène sur l'ensemble de l'image.

Remarque : L'hypothèse d'homogénéité de l'éclairement sur l'ensemble de l'image dépend fortement de la qualité du microscope employé. En utilisant pour nos acquisitions un microscope qui donnait satisfaction en observation visuelle, nous nous

¹Le réseau est une composante connexe ayant un grand nombre de pixels dans l'image

sommes aperçus qu'il y avait une dérive de luminosité sur la diagonale principale de l'image que nous avons facilement supprimée en changeant la lampe du microscope (!...).

I.4 Réseau inter-fibres sur les colorations à recaler

Ces colorations ont été élaborées pour révéler les propriétés enzymatiques des fibres. Des fibres voisines spatialement et ayant les mêmes propriétés enzymatiques se retrouvent sur l'image regroupées en régions quasi-uniformes en luminance que l'on appelle *ilôts*. En effet, dans ces ilôts, deux fibres voisines ne sont en général plus séparées car le colorant s'est fixé également sur le réseau inter-fibres. Ces ilôts sont colorés sur des plages différentes de niveaux de gris en fonction du type de l'ilôt. Il y a en général deux ou trois types d'ilôts selon la coloration traitée. Le réseau inter-fibres n'est donc détectable que partiellement. On notera cependant que les transitions entre ilôts font parties du réseau inter-fibres (voir figure I.4).

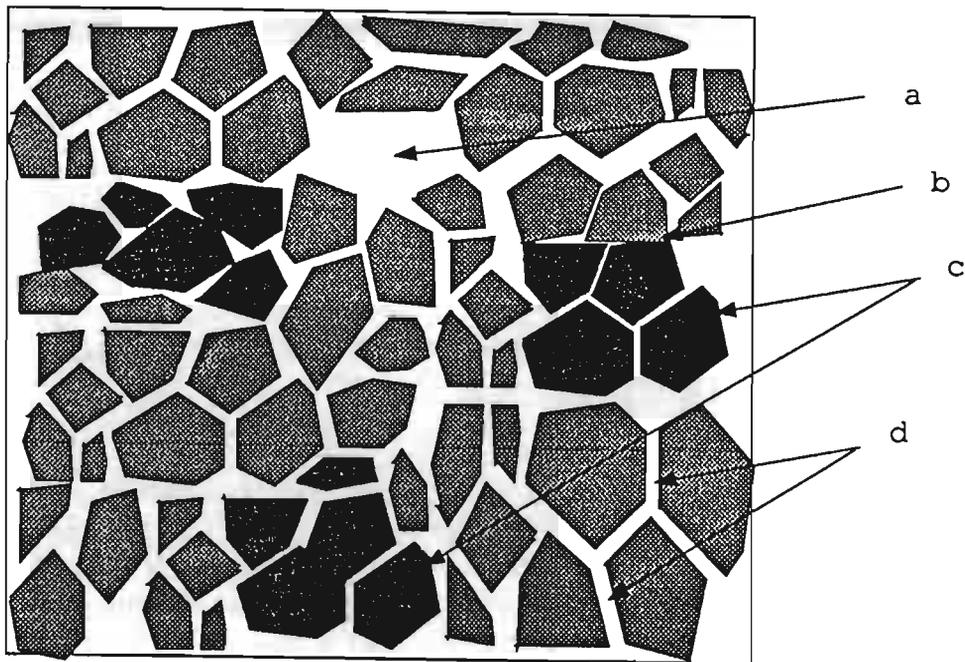


Figure I.4 : Le réseau inter-fibres dans les colorations de type : (a) cellules adipeuses, (b) transitions entre ilôts sans inter-fibres, (c) ilôts dans lesquels l'inter-fibres est très mal échantillonné, (d) branches fines d'inter-fibres

Chapitre II

Les méthodes d'extraction de primitives dans la bibliographie

II.1 Introduction

La plupart des problèmes d'analyse d'images sont résolus en deux étapes distinctes. La première étape, appelée extraction de primitives, consiste à extraire des images une représentation symbolique. La seconde étape, appelée analyse, consiste à étudier cette représentation symbolique pour résoudre une tâche particulière.

L'idée sous-jacente est que l'image initiale est difficile à analyser directement car, d'une part elle contient trop de points, et d'autre part tous les points ne contiennent pas une information pertinente pour la tâche à accomplir.

Dans le cadre de notre application, l'individualisation des fibres est un traitement à l'issue duquel on extraira une représentation symbolique caractérisant le réseau. La mise en correspondance des images de coloration à partir de cette représentation symbolique constituera l'étape d'analyse.

Dans ce chapitre, nous décrivons les méthodes d'extraction de primitives en fonction du contexte pris en compte dans la phase de détection des primitives. Nous présenterons successivement les détecteurs basés sur :

- la valeur de luminosité du point
- la combinaison des luminosités dans un voisinage donné
- l'analyse de suites ordonnées de points
- l'analyse de régions
- une approche hiérarchique

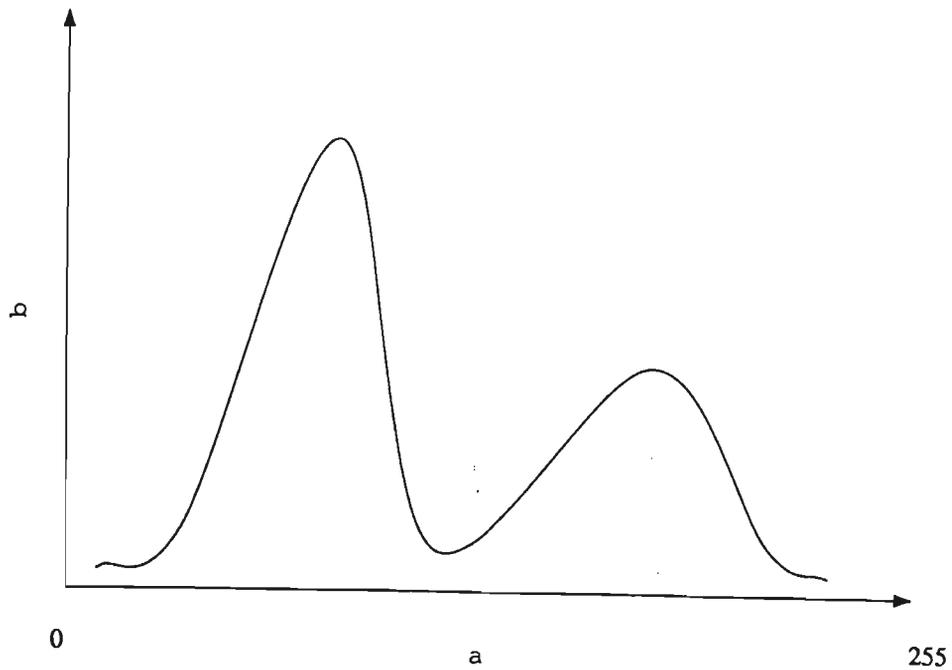


Figure II.1 : Histogramme des luminosités bimodal : (a) échelle des luminosités, (b) nombre de pixels

II.2 Détecteurs basés sur la valeur de luminosité du point

Sur la coloration de référence, on veut classer les pixels en deux classes : fibre et réseau inter-fibres. On peut donc penser qu'une séparation sur un critère de bimodalité de l'histogramme des luminances est envisageable. Pour cela, on détermine en général des seuils qui peuvent être absolus ou adaptatifs. Ces seuils peuvent être calculés de manière automatique [Chaume79], [Chow72], [Gonzalez87].

Si, dans l'image, les objets se distinguent bien du fond, on peut penser que l'histogramme des luminosités est bimodal (cf figure II.1). Il est alors possible de fixer un seuil global de binarisation. Il nous faut alors deux outils pour implémenter cette méthode :

- un critère permettant d'évaluer la bimodalité
- si l'histogramme est jugé bimodal, un critère optimal pour calculer le seuil

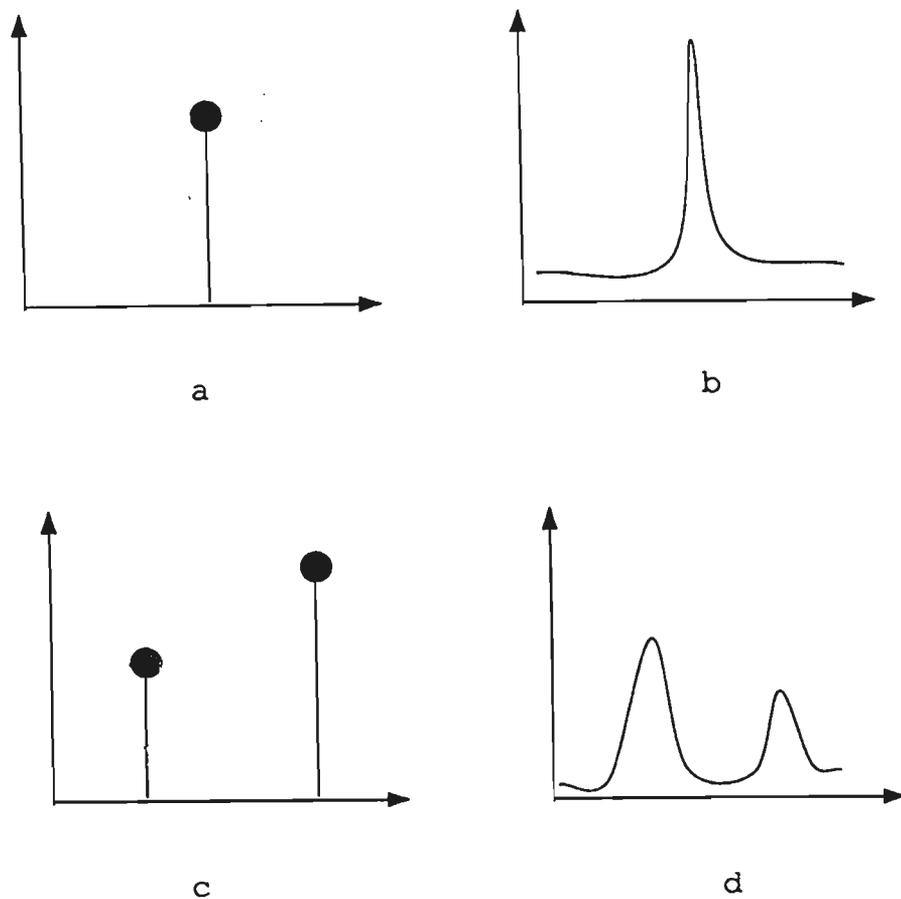


Figure II.2 : Critère de bimodalité : (a) zone parfaitement homogène, $B = 0$, (b) zone peu hétérogène, B très faible, (c) contour parfait, $B = 1$, (d) contour réel, B très proche de 1

II.2.1 Critère de bimodalité

Nous pouvons citer l'indice de bimodalité défini dans [Chaume79]. Il est déterminé en calculant la proportion B de pixels extérieurs à l'intervalle $[m - w\sigma, m + w\sigma]$, m étant la moyenne, σ l'écart-type et w un paramètre entre 0 et 1 déterminé par l'utilisateur. Dans une zone homogène, B est nul car l'histogramme est un pic. B vaut 1 quand on observe deux zones homogènes distinctes sur l'histogramme (cf figure II.2).

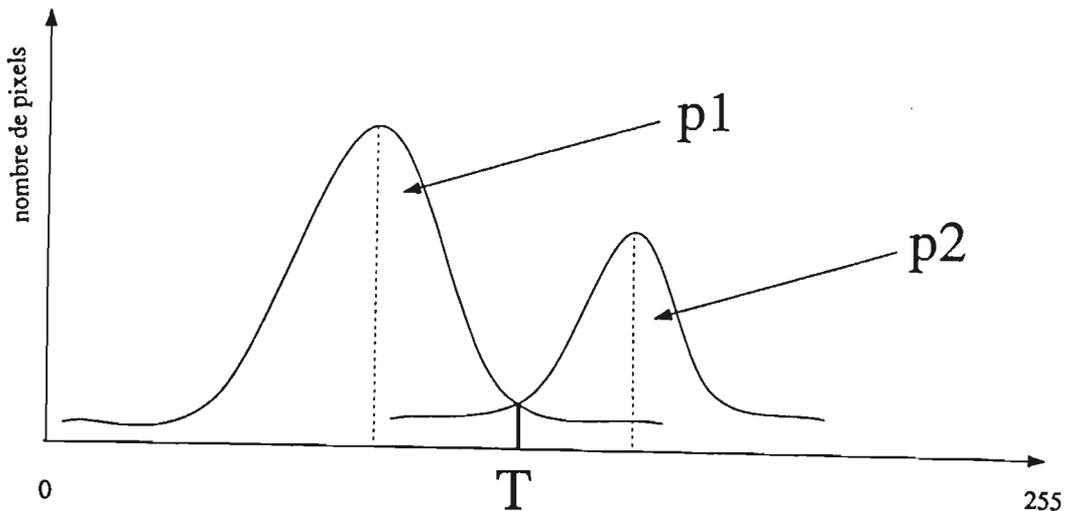


Figure II.3 : Détermination du seuil optimal

II.2.2 Seuillage optimal

En supposant que l'histogramme est bimodal, on peut modéliser la distribution des niveaux de gris comme le mélange de deux gaussiennes [Gonzalez87]. La fonction de densité de probabilité du mélange s'écrit donc :

$$p(x) = P_1 \cdot p_1(x) + P_2 \cdot p_2(x) \quad (1)$$

avec

$$p_i(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_i} \exp\left(-\frac{(x - \mu_i)^2}{2\sigma_i^2}\right) \quad (2)$$

$$\text{pour } i = 1, 2 \quad (3)$$

et P_1, P_2 les probabilités a priori des deux distributions tels que $P_1 + P_2 = 1$ et (μ_i, σ_i) les moyennes et écart-types des distributions.

Pour déterminer le seuil optimal, on cherchera à minimiser l'erreur de mauvais classement (cf figure II.3) :

- la probabilité de mauvais classement d'un point objet est :

$$E_1(T) = \int_{-\infty}^T p_2(x) dx$$

- la probabilité de mauvais classement d'un point fond est :

$$E_2(T) = \int_T^{+\infty} p_1(x) dx$$

L'erreur totale est donc

$$E(T) = P_1 \cdot E_2(T) + P_2 \cdot E_1(T)$$

On minimise l'erreur en posant que la dérivée de E par rapport à T est égale à 0. On obtient le résultat suivant :

$$P_1 \cdot p_1(T) = P_2 \cdot p_2(T)$$

En appliquant ce résultat aux fonctions gaussiennes et après passage en logarithme et simplification, on obtient l'équation:

$$AT^2 + BT + C = 0$$

avec

$$A = \sigma_1^2 - \sigma_2^2$$

$$B = 2(\mu_1 \sigma_2^2 - \mu_2 \sigma_1^2)$$

$$C = \sigma_1^2 \mu_2^2 - \sigma_2^2 \mu_1^2 + 2\sigma_1^2 \sigma_2^2 \ln\left(\frac{\sigma_2 P_1}{\sigma_1 P_2}\right)$$

Si les deux variances sont égales, on obtient un seul seuil:

$$T = \frac{\mu_1 + \mu_2}{2} + \frac{\sigma^2}{\mu_1 - \mu_2} \ln\left(\frac{P_2}{P_1}\right)$$

si $P_1 = P_2$, T est la moyenne des moyennes.

Les paramètres des distributions gaussiennes $((\mu_1, \sigma_1), (\mu_2, \sigma_2))$ et les proportions des deux populations P_1 et P_2 peuvent être évalués par la méthode des moindres carrés en minimisant l'expression M :

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N [p(x_i) - h(x_i)]^2$$

avec

- N nombre de points dans l'histogramme
- $p(x_i)$ intensité du pixel dans le mélange des densités

- $h(x_i)$ intensité du pixel dans l'histogramme

Le système à résoudre est composé d'équations transcendantales qui ne peuvent pas être résolues analytiquement. Il est alors nécessaire d'utiliser une procédure numérique itérative du type gradients conjugués ou méthode de Newton. Quelle que soit la méthode employée, il faut déterminer les valeurs initiales des 6 paramètres. En général, on suppose que les proportions initiales sont égales : $P_1 = P_2 = \frac{1}{2}$. Les valeurs initiales des moyennes et variances des deux populations peuvent être déterminées en divisant l'histogramme en deux parties autour de la médiane.

Dans notre application, l'observation empirique de l'histogramme des niveaux de gris sur l'ensemble de l'image (voir image II.4) ne permet pas de penser qu'en général on ait affaire à une distribution bimodale. En effet, la surface occupée par l'intérieur des fibres colorée en noir est beaucoup plus importante que celle occupée par le réseau inter-fibres (voir image .2). Les méthodes de binarisation basées sur l'étude de l'histogramme paraissent donc inapplicables globalement sur l'image. Dans ce cas, il faut effectuer la binarisation sur des subdivisions de l'image. Deux inconvénients apparaissent alors :

- Il faut déterminer les seuils par interpolation dans les blocs où l'histogramme n'est pas bimodal.
- Calculés sur un plus petit nombre de pixels, les seuils associés aux blocs sont moins robustes que celui associé à l'image entière.

Pour ces raisons, nous avons écarté cette méthode de binarisation.

II.3 Détecteurs basés sur la combinaison des luminosités dans un voisinage donné

Dans le cas des colorations à recaler, la procédure de segmentation doit pouvoir séparer plusieurs plages de niveaux de gris correspondant aux îlots. Les méthodes de binarisation basées sur la bimodalité de l'histogramme ne suffisent plus. Pour détecter à la fois les frontières entre îlots et les branches fines de l'inter-fibres, il nous a paru intéressant de prospecter les méthodes de détection de contours. Dans ce type d'approche, on tient compte d'un petit voisinage pour aboutir à un paramètre, par exemple le module du gradient qui servira dans la prise de décision. On obtient en même temps l'information orientation du contours. Nous présenterons successivement les opérateurs de type :

- module de gradient

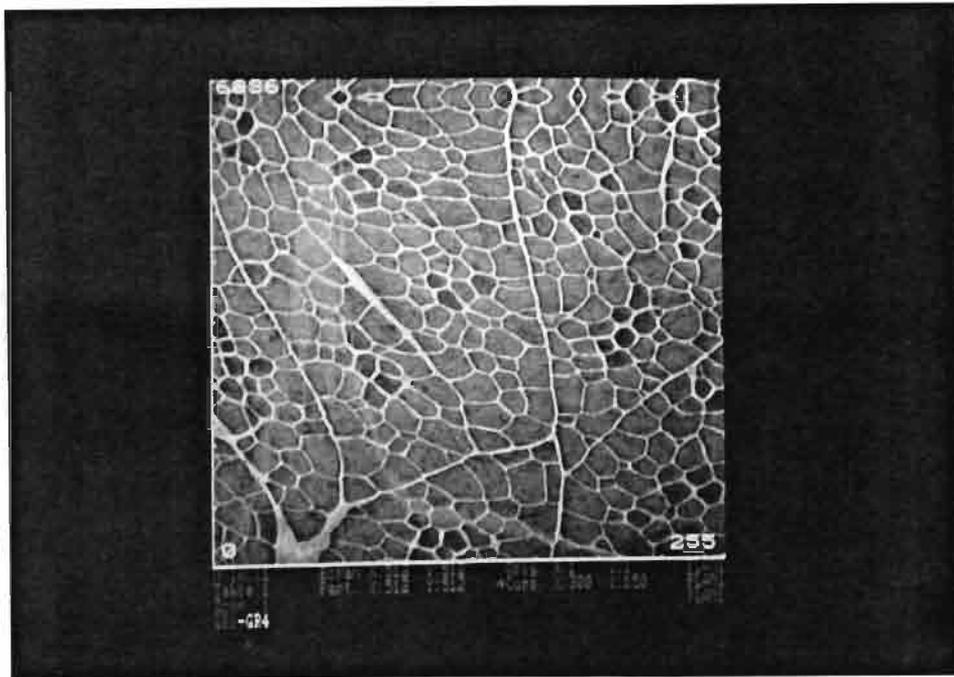


Figure II.4 : Coloration de référence. L'histogrammes des niveaux de gris des pixels apparait en surimpression rouge.

- convolution avec k masques
- Laplacien

Les opérateurs ci-dessus effectuent uniquement la caractérisation du voisinage des points. Nous parlerons dans la sous-section II.3.4 des méthodes utilisées pour décider le statut d'un point (contour ou fond) à partir de cette caractérisation.

II.3.1 Opérateurs de type module de gradient

Ces opérateurs calculent un gradient suivant deux directions orthogonales avec deux masques. On obtient deux composantes de gradient en x et en y. Une approximation du module du gradient peut être obtenue de plusieurs façons :

- $\max(|\Delta x|, |\Delta y|)$
- $|\Delta x| + |\Delta y|$
- $\sqrt{(\Delta x)^2 + (\Delta y)^2}$

Opérateur de Roberts

Cet opérateur approxime la dérivée de l'image suivant deux axes orthogonaux orientés à $\pm 45^\circ$ par rapport à l'horizontale. On convolue l'image avec deux masques H_1 et H_2 sur un voisinage 2×2 :

$$H_1 = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & -1 \end{pmatrix}$$

$$H_2 = \begin{pmatrix} 0 & 1 \\ -1 & 0 \end{pmatrix}$$

Opérateurs de Prewitt et Sobel

Ces opérateurs effectuent une approximation de la dérivée de la fonction en niveaux de gris en ligne et colonne. Ils utilisent des masques 3×3 . Citons par exemple les masques de l'opérateur de Sobel :

$$H_1 = \begin{pmatrix} 1 & 0 & -1 \\ 2 & 0 & -2 \\ 1 & 0 & -1 \end{pmatrix}$$

$$H_2 = \begin{pmatrix} -1 & -2 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & 1 \end{pmatrix}$$

Opérateurs de Canny et Deriche

Canny [Canny83] propose un détecteur de contours optimal par rapport à trois critères :

- Maximisation du rapport signal/bruit en sortie du filtre
- Minimisation de la variance de la position spatiale des passages par zéro
- Minimisation du nombre de maxima locaux détectés en réponse à un seul contour

Il démontre que la dérivée d'une gaussienne est une bonne approximation de la fonction de convolution optimale.

Deriche [Deriche87a] propose une version récursive du filtre de Canny qui permet d'élargir à l'infini la portée du filtre (implémentation RII¹). Nous développerons dans les chapitres suivants les méthodes d'implémentation de ces filtres que nous avons utilisés dans nos algorithmes.

II.3.2 Opérateurs de type convolution avec k masques

Dans ces opérateurs, on définit une série de k masques calculés pour donner leur sortie maximale lorsque l'orientation du contour au point courant est égale à $2\pi/k$. Les opérateurs de Compass, Kirsch et Nevatia utilisent 8 masques. Les opérateurs de Prewitt et Sobel utilisent 4 masques puisque la sortie du masque i est l'opposée de la sortie du masque $(i + k/2) \bmod k$. L'ensemble des masques se déduit des masques H_1 et H_2 par permutation circulaire. Nous présentons en exemple les masques de l'opérateur de Compass:

$$H_1 = \begin{pmatrix} 1 & 1 & -1 \\ 1 & -2 & -1 \\ 1 & 1 & -1 \end{pmatrix}$$

$$H_2 = \begin{pmatrix} 1 & -1 & -1 \\ 1 & -2 & -1 \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix}$$

II.3.3 Opérateurs de type Laplacien

On détecte les points contours en analysant les changements de concavité dans la convolution de l'image avec le Laplacien discret. En effet, les contours correspondent aux endroits où le gradient est un maximum local, ce qui revient à détecter les passages par zéro dans la dérivée seconde (cf figure II.5). Cette méthode a la particularité d'être sensible au bruit. En général, on commence par convoluer l'image avec un filtre passe-bas. Formellement, si l'on note $I(x, y)$ l'image à filtrer et G la réponse impulsionnelle du filtre passe-bas utilisé, on calcule directement la convolution de I par le Laplacien de G :

$$I_1 = (\nabla^2) \otimes I$$

G est en général une gaussienne dont la formulation en coordonnées polaires est :

$$G(r) = e^{-\frac{r^2}{2\pi\sigma^2}}$$

Le paramètre σ sert à régler la résolution à laquelle les contours sont détectés [Ayache89].

¹Réponse Impulsionnelle Infinie

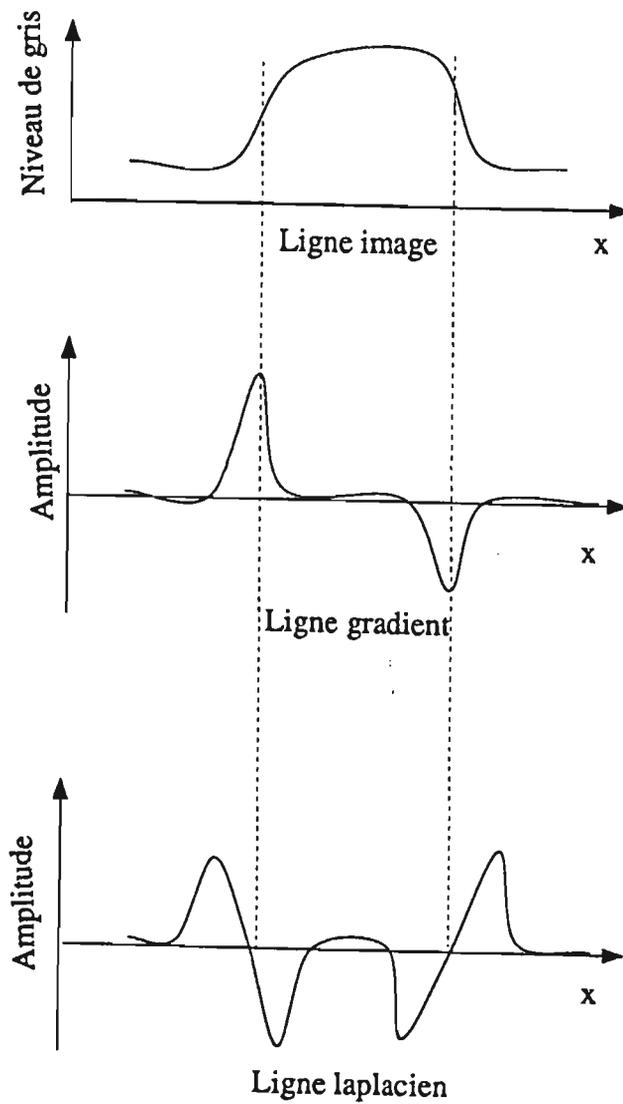


Figure II.5 : Calcul du laplacien par détection des passages par zéro dans la dérivée seconde

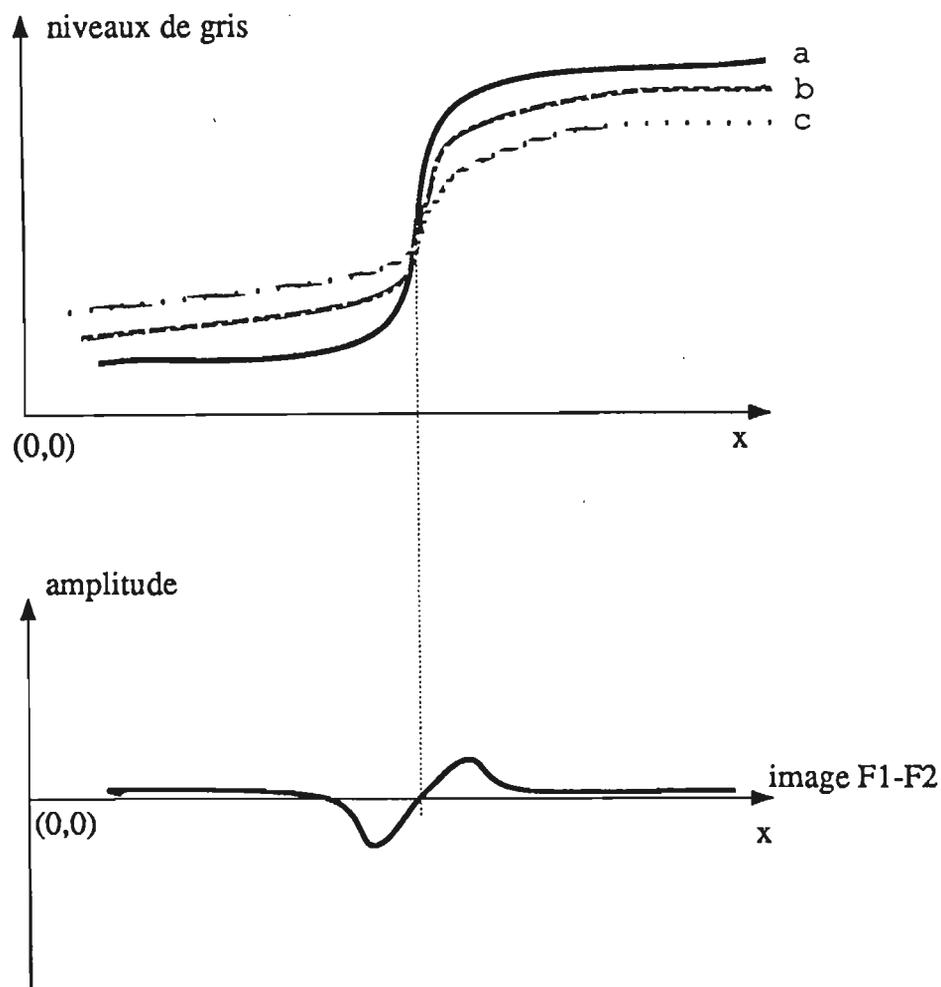


Figure II.6 : Calcul du laplacien par la différence de deux fonctions constantes de supports différents : (a) image initiale, (b) image filtrée une fois : F1, (c) image filtrée deux fois : F2

Une simplification courante consiste à approximer le Laplacien de la gaussienne par la différence de deux gaussiennes ou par la différence de deux fonctions constantes de supports différents. Par exemple, l'image est convoluée avec deux noyaux qui calculent la moyenne d'un voisinage 7×7 et 3×3 respectivement. La différence des images résultats donne une image de polarités dont les passages par zéro constituent les points contours (cf figure II.6) [Keskes82], [Ayache83], [Shen85].

II.3.4 Méthodes utilisées pour déterminer le statut d'un point

Ces méthodes peuvent se répartir en deux classes:

- celles basées sur un critère déterministe
- celles introduisant une notion d'incertain

Critères déterministe

Les passages par zéro Dans cette classe, on retrouve la technique de la détection des passages par zéro (introduite par Marr [Marr80]) sur l'image filtrée par le laplacien d'une fonction G .

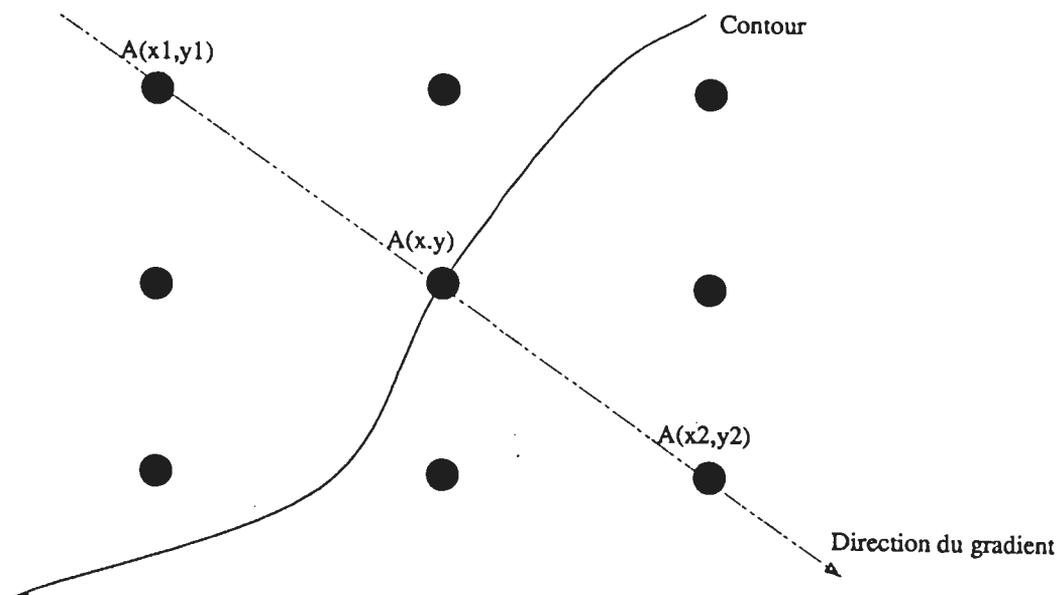
L'affinage Lorsque l'on veut obtenir des contours fins à partir de l'image des amplitudes du gradient, certains auteurs ([Toumazet87], [Ayache89] par exemple) proposent de ne garder comme points contours que les maxima locaux perpendiculairement au contour. Le test du maximum local se fait dans un voisinage 3×3 (cf figure II.7).

Le résultat est un ensemble de points contours qui tend à former des chaînes connexes d'épaisseur 1.

Critères introduisant une notion d'incertain

Seuillage par "hystérésis" Cette méthode consiste à découper l'histogramme des amplitudes du gradient en trois zones :

- une zone de points appartenant au fond de manière certaine : $[0, s_b[$
- une zone d'incertitude : $[s_b, s_h]$
- une zone de points appartenant aux contours de manière certaine : $]s_h, 255]$



si $A(x,y)$ est supérieur à $A(x1,y1)$ et $A(x2,y2)$ alors $A(x,y)$ est point contour

Figure II.7 : Détermination des maxima locaux

avec $s_b < s_h$.

Dans la zone d'incertitude, on conserve les ensembles connexes de points contours de valeur supérieure au seuil bas s_b qui contiennent au moins une valeur supérieure au seuil haut s_h [Deriche87b], [Ayache89].

Adaptation de la méthode de relaxation à la détection de contours On introduit un modèle probabiliste empirique [Rosenfeld82] pour classer les pixels de l'image. A chaque pixel P_i de l'image, on associe un vecteur de probabilités $p_i = (p_{i_1}, \dots, p_{i_9})$ dans lequel les 8 premières représentent les probabilités de contours dans 8 directions, la neuvième représente l'absence de contour. Ces probabilités vont être modifiées itérativement en fonction des vecteurs de probabilités associés aux pixels P_j voisins spatialement de P_i . Pour cela, on définit un coefficient de compatibilité entre classes c_{ikjm} qui représente la compatibilité entre l'appartenance du pixel P_i à la classe k et l'appartenance du pixel P_j à la classe m . A l'itération μ du processus de relaxation, si la probabilité \hat{p}_{jm}^μ est forte et que le coefficient c_{ikjm} indique une forte compatibilité, on augmentera $\hat{p}_{ik}^{\mu+1} (= \hat{p}_{ik}^\mu + \delta)$.

Au contraire, si c_{ikjm} indique une forte incompatibilité, on diminuera $\hat{p}_{ik}^{\mu+1} (= \hat{p}_{ik}^\mu - \delta)$. Cette méthode est très générale et peut s'adapter à d'autres étapes du processus d'analyse d'images. Nous proposerons dans la deuxième partie de ce document, un

algorithme de mise en correspondance de points basé sur la relaxation. En général, le nombre d'itérations à effectuer est déterminé empiriquement.

II.4 Détecteurs de lignes

Nous appelons détecteurs de lignes les opérateurs qui effectuent la détection de suites de pixels. Ces détecteurs peuvent être utilisés dans la phase de fermeture de contours (sous-section II.4.1) ou d'extraction d'un squelette (sous-section II.4.2).

II.4.1 Programmation dynamique

Les détecteurs par programmation dynamique peuvent s'appuyer sur les opérateurs que nous avons présentés dans la section II.3.1. Considérons l'image des amplitudes du gradient comme un graphe. On définit une fonction de coût liée à la définition que l'on se donne des points appartenant aux contours. Le problème revient alors à détecter les chemins optimaux par rapport au critère de coût dans le graphe des points de l'image. Nous citerons par exemple les travaux de [Deriche87b] et [Bertrand87] dans lesquels la fonction de coût maximisée est l'amplitude du gradient sur les chemins considérés. Lorsque l'on explore un chemin, le contexte pris en compte dans la fonction de coût est l'ensemble des pixels constituant déjà le chemin. Nous développerons plus en détail cette approche que nous avons implémentée dans l'algorithme d'extraction du réseau inter-fibres sur la coloration de référence.

II.4.2 Analyse syntaxique

Dans la coloration de référence, on peut considérer que le réseau inter-fibres constitué de branches fines peut être modélisé par un squelette en niveaux de gris. On peut définir ce squelette comme un ensemble connexe constitué d'objets fins reconnaissables par un analyseur syntaxique [Camillerapp84], [Leplumey86]. Un objet fin est modélisé par la succession d'une monotonie croissante et d'une monotonie décroissante sur une ligne ou une colonne de l'image en niveaux de gris. De l'objet détecté par analyse des lignes (resp. des colonnes) on conserve plusieurs informations:

- coordonnées du pixel début de l'objet : x_d
- luminance du pixel début de l'objet : l_{x_d}
- coordonnées du pixel fin de l'objet : x_f
- luminance du pixel fin de l'objet : l_{x_f}
- coordonnées du pixel de plus forte luminance dans l'intervalle $[x_d, x_f]$: x_m

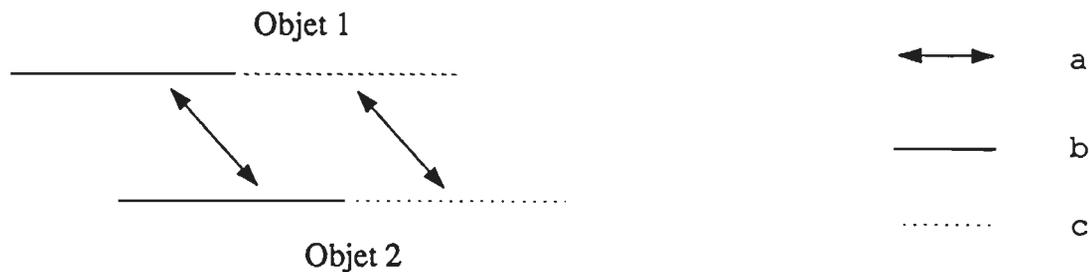


Figure II.8 : Liens unaires entre objets horizontaux et verticaux : (a) lien de 4-connextité, (b) partie droite, (c) partie gauche

- la luminance du pixel x_m : l_{x_m}

On choisit comme point squelette le pixel de plus forte luminance sur l'intervalle $[x_d, x_f]$. On effectue le chaînage des points squelette en considérant les liens de 4-connextité entre les objets détectés sur des lignes (resp. sur des colonnes) différentes (voir figure II.8). Pour cela, on définit la notion de lien unaire entre deux objets :

Définition 1 deux objets parallèles S_1 et S_2 sont liés par un lien unaire si :

- la partie droite de S_1 et la partie droite de S_2 sont 4-connexes et
- la partie gauche de S_1 et la partie gauche de S_2 sont 4-connexes

Cette méthode peut être étendue aux objets épais en appliquant à l'image initiale un détecteur de contours avant l'analyse syntaxique.

II.5 Détecteurs basés sur l'analyse de régions de points

Pour individualiser les fibres sur la coloration de référence, plutôt que de rechercher les frontières entre fibres, comme nous l'avons vu dans les deux sections précédentes, nous pouvons essayer de détecter les régions de pixels constituant les fibres sur un critère d'homogénéité. Dans cette section, nous présentons deux types d'approches :

- les méthodes basées sur la morphologie mathématique
- les méthodes de croissance de région.

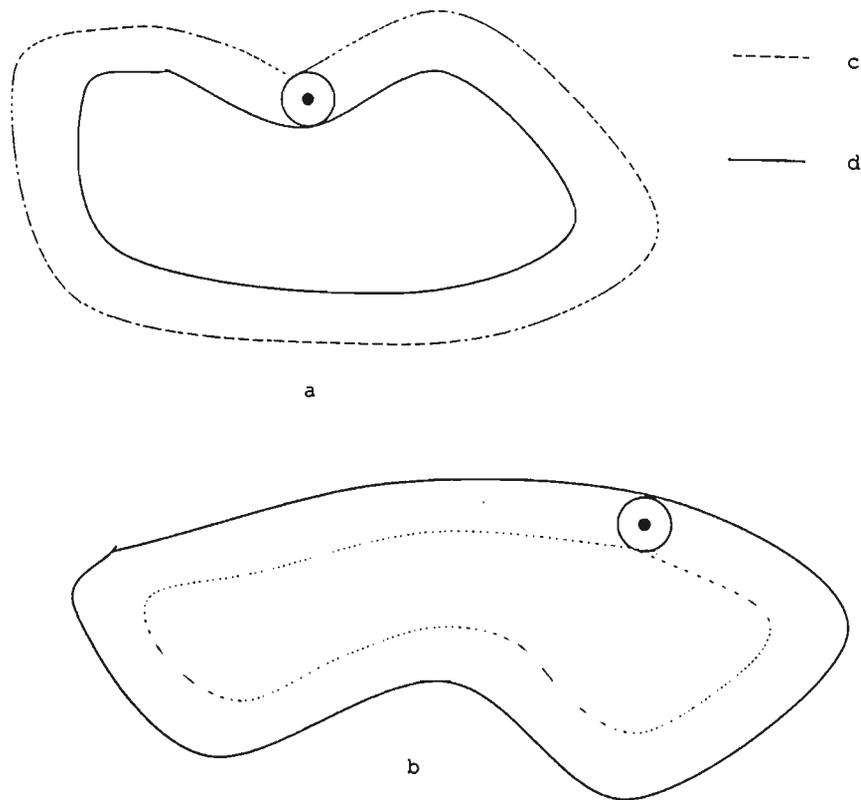


Figure II.9 : Dilatation et érosion binaires : (a) dilatation, (b) érosion, (c) résultat de la transformation, (d) forme initiale

II.5.1 Morphologie Mathématique

La morphologie mathématique est basée sur l'étude des structures et des formes présentes dans les images.

Pour opérer sur les images binaires, on dispose d'opérateurs ensemblistes (dilatation, érosion). On définit un élément structurant comme étant une configuration locale de pixels (par exemple un carré 3x3, un segment horizontal de 5 pixels,...). On superpose cet élément en chaque point de l'image binaire en se demandant si l'élément est inclus dans (resp. intersecte) un objet ou non. Dans le premier cas, on affecte au point testé la valeur du fond : il s'agit d'une érosion. Dans le deuxième cas, on affecte au point la valeur objet : il s'agit d'une dilatation (cf figure II.9).

Ces opérateurs s'étendent au traitement des images multi-niveaux de gris. On remplace l'opérateur ensembliste (inclusion, intersection) par un opérateur fonction-



Figure II.10 : Dilatation et érosion en niveaux de gris : Erosion en niveaux de gris par l'élément (1,1,1), (b) Dilatation en niveaux de gris par l'élément (1,1,1)

nel (min, max). La luminosité d'un pixel x est considérée comme une fonction $f(x)$ à valeur dans l'intervalle $[0, 255]$. Le dilaté (resp. l' érodé de la fonction $f(x)$) noté $(f \oplus g)(x)$ (resp. $(f \ominus g)(x)$) est alors le maximum (resp. le minimum) des niveaux de gris des pixels couverts par l'élément structurant g (cf figure II.10).

On peut alors construire des opérateurs basés sur ces deux opérateurs élémén-

taires. Les deux plus connus sont la fermeture et l'ouverture définis de la manière suivante :

- La fermeture : $ferm(f(x)) = ((f \oplus \check{g}) \ominus g)(x)$
- L'ouverture : $ouvert(f(x)) = ((f \ominus \check{g}) \oplus g)(x)$

(\check{g} étant le symétrique de g par rapport à son centre).

Intuitivement, sur une image dans laquelle les objets sont blancs sur fond noir, la fermeture lisse les objets et bouche les petits trous noirs, l'ouverture écrete les pics et élimine le bruit dans le fond (cf figure II.11).

En utilisant ces opérateurs de base, on peut définir des transformations basées sur un critère d'homogénéité. Citons trois exemples:

Le chapeau haut-de-forme

Cet opérateur, introduit par Fernand Meyer [Meyer79] permet de détecter des objets sur un critère de largeur L et d'amplitude A quelle que soit l'altitude de l'objet. Cet opérateur se calcule de la manière suivante (cf figure II.12):

- (1) on effectue une ouverture de diamètre L .
- (2) on soustrait l'image en niveaux de gris à l'image ouverte
- (3) on seuille le résultat de la soustraction à la hauteur A

Remarque : Cet opérateur s'avère particulièrement utile lorsque l'on veut s'affranchir d'une dérive de luminosité sur l'image.

Les R-H maxima

Cet opérateur introduit par Françoise Préteux et Michel Schmitt [Preteux86] permet de détecter des objets sur un critère de pente minimale r/h (r étant la largeur de l'objet, h l'amplitude). Cet opérateur intègre trois étapes :

- (1) on effectue une fermeture et une ouverture de petite taille pour débruiter l'image
- (2) on calcule les maxima régionaux (ensembles connexes de pixels ayant même niveau de gris entourés de pixels de niveaux de gris moins élevés). A l'image des maxima régionaux, on soustrait la valeur h (cf figure II.13)

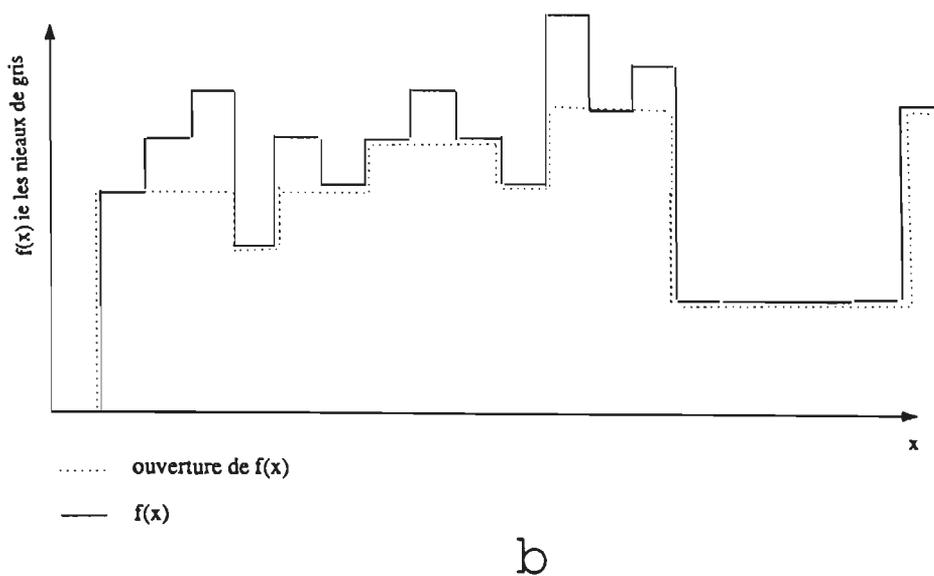
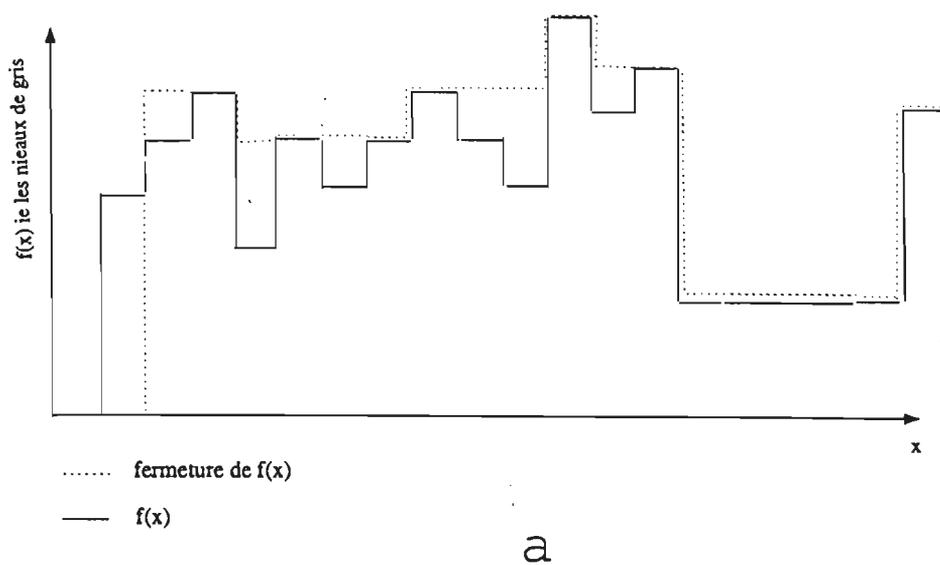


Figure II.11 : Ouverture et fermeture en niveaux de gris : (a) Fermeture en niveaux de gris par l'élément (1,1,1), (b) Ouverture en niveaux de gris par l'élément (1,1,1)

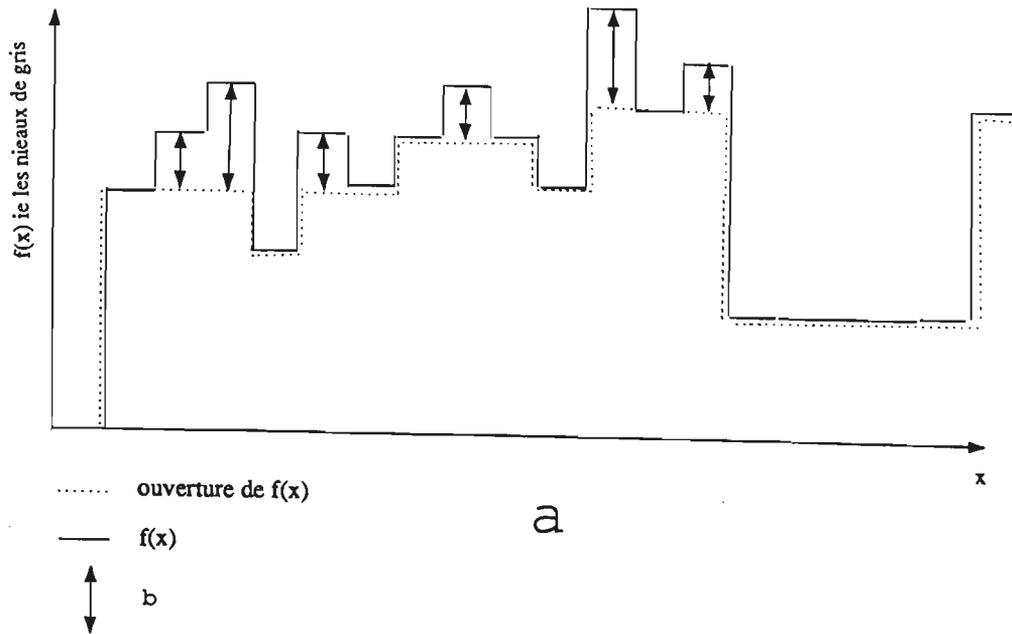


Figure II.12 : Le chapeau haut-de-forme : (a) chapeau haut-de-forme par l'élément (1,1,1), (b) amplitude restituée par le chapeau haut-de-forme

- (3) on effectue une dilatation de l'image obtenue en (2) de taille r conditionnellement à l'image initiale (ie sans dépasser les valeurs de niveaux de gris de l'image initiale)

Les valeurs de la fonction de niveaux de gris obtenue à l'étape (3) se confondent avec celles de l'image initiale dans les endroits où les objets sont de pente supérieure à r/h (cf figure II.13).

Les lignes de partage des eaux

Beucher [Beucher87] nous en donne une définition intuitive en prenant l'exemple de la goutte d'eau sur une surface topographique représentant la fonction en niveaux de gris. La goutte s'écoule et s'arrête lorsqu'elle atteint un minimum local. A chaque minimum local, on associe l'ensemble des points du relief topographique desquels l'eau arrivera. Cet ensemble s'appelle le bassin versant. Plusieurs bassins versant peuvent se chevaucher : les points communs forment la ligne de partage des eaux de la fonction en niveaux de gris (cf figure II.14).

On peut implémenter cette transformation à partir d'un amincissement de l'image en niveau de gris suivi d'un ébarbulage. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle est itérative et le nombre d'itérations dépend de la taille des zones les plus larges.

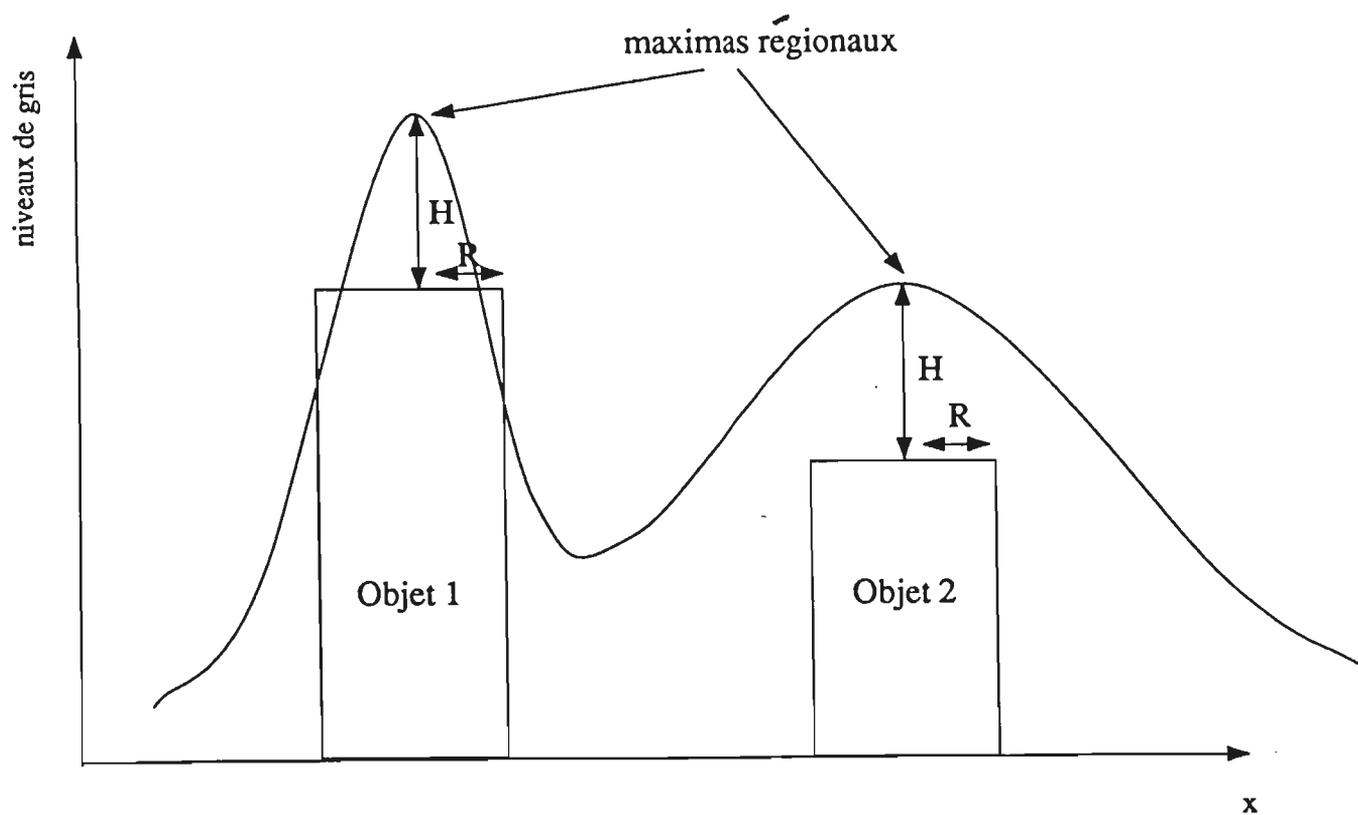


Figure II.13 : Les r/h maxima

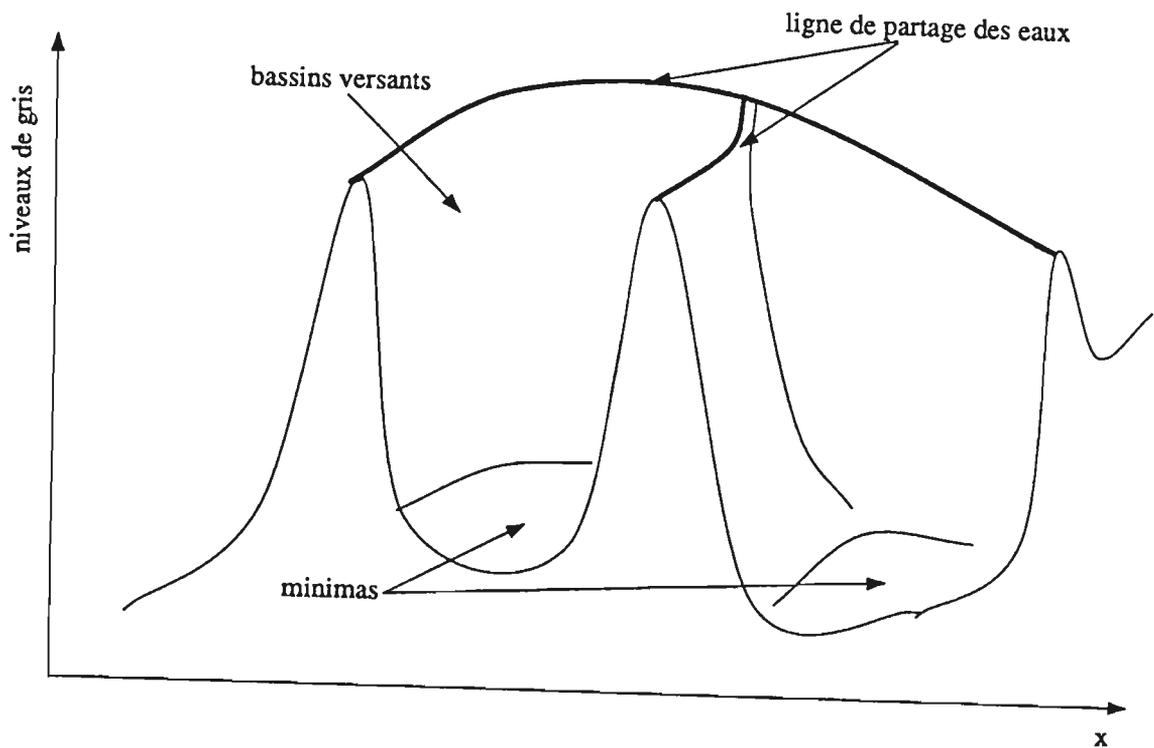


Figure II.14 : La ligne de partage des eaux

Friedlander et Meyer ont proposé un algorithme séquentiel [Friedlander87] pour calculer la ligne de partage des eaux. L'algorithme se décompose en 3 étapes :

- (1) calcul des minima régionaux (ie les zones connexes de l'image avec une valeur constante de f entourées par des valeurs plus élevées).
- (2) Calcul des bassins versants restreints (ie les points de f qui ne s'écoulent que vers un seul minimum régional)
- (3) Calcul du squelette par zone d'influence des bassins-versants restreints (le squelette par zone d'influence est l'équivalent de la ligne de partage des eaux mais pour les images binaires. C'est l'ensemble des frontières où se rencontrent les zones d'influences ² des particules présentes sur l'image)

L'étape (2) de l'algorithme s'effectue en diffusant les étiquettes associées aux minima régionaux sur les pixels voisins dont les niveaux de gris forment une suite monotone croissante (cf figure II.15).

On a donc une forme de processus de croissance de régions à partir de germes qui sont les minima régionaux. Cette transformation est à rapprocher des algorithmes de croissance de régions que nous allons maintenant aborder.

II.5.2 Croissance de régions

Cette méthode repose sur un processus d'aggrégation de points autour de germes choisis initialement sur l'image. L'aggrégation se fait sur un critère d'homogénéité de luminance ou de texture [Chen79]. Ce processus de fusion (MERGE) est itéré jusqu'à stabilité. Il peut éventuellement être suivi d'une phase d'éclatement (SPLIT) de certaines régions. Habituellement, on formule la segmentation orientée région de la manière suivante : soit R l'image entière, la segmentation est un processus qui subdivise R en n sous-régions, R_1, R_2, \dots, R_n telles que :

- (1) $\bigcup_{i=1}^n R_i = R$
- (2) R_i est une région connexe $\forall i = 1, \dots, n$
- (3) $R_i \cap R_j = \emptyset \forall i \text{ et } j, i \neq j$
- (4) $P(R_i) = \text{vrai} \forall i = 1, \dots, n$
- (5) $P(R_i \cup R_j) = \text{faux} \forall i \neq j,$
où $P(R_i)$ représente le prédicat d'homogénéité

²ie l'ensemble des points du fond plus proches de cette particule que des autres

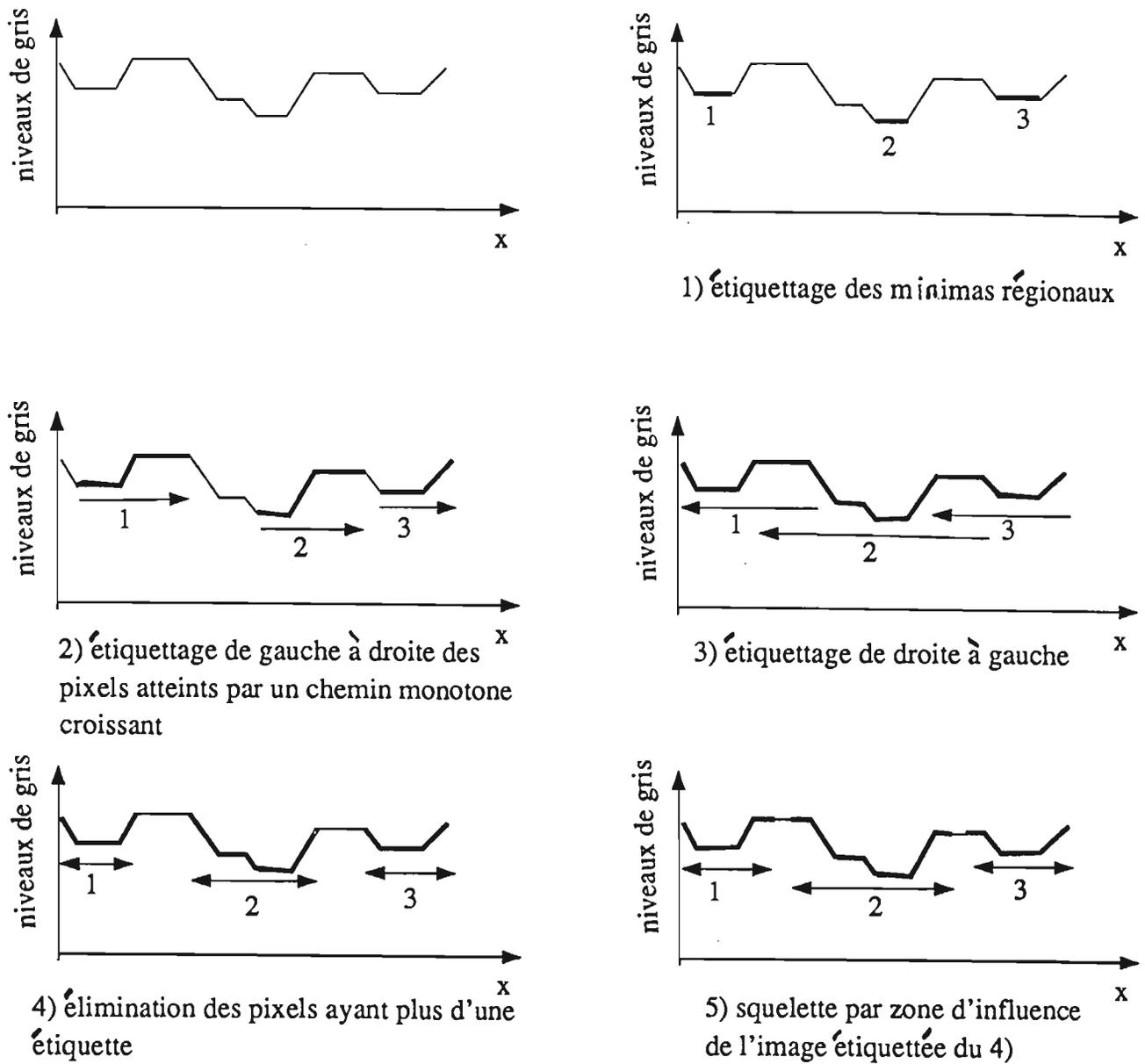


Figure II.15 : Les bassins versants restreints

Nous parlerons plus particulièrement de l'approche récente d'Olivier Monga [Monga87] qui est basée sur deux idées majeures :

- L'utilisation d'une séquence de critères
- L'optimisation de l'utilisation de chaque critère

L'utilisation d'une séquence de critères

Alors que dans les approches classiques, les auteurs proposent l'utilisation d'un seul critère, Monga propose d'effectuer la croissance de régions en plusieurs étapes en utilisant une succession de critères. L'idée consiste à commencer avec un critère très sévère qui génère une segmentation très fine de l'image (Ex: $|\max_{i \in R} l_i - \min_{j \in R} l_j| < s_1$). Puis on utilise des critères de moins en moins contraignants : par exemple le critère 2 est : $Var(R_i) < s_2$, le critère 3 (avant fusion) : $D(R_1, R_2) < s_3$ (avec D gradient moyen à la frontière entre les deux régions fusionnées R_1 et R_2). On obtient donc une segmentation basée sur une hiérarchie de critères :

- **le critère 1** : autorise l'union des régions de même luminosité.
- **le critère 2** : autorise un bruit plus important dans les régions fusionnées que le critère 1.
- **le critère 3** : autorise l'union des régions de luminosité moyenne différente ayant un faible gradient de séparation.

L'optimisation de l'utilisation de chaque critère

Dans les approches classiques, on ne garantit pas en général l'unicité de la segmentation obtenue. Par exemple, on peut constater que la segmentation est dépendante du sens de balayage. Monga apporte une réponse partielle à ce problème en associant au critère d'homogénéité des régions un critère de qualité des fusions entre régions. Les fusions sont effectuées par ordre croissant sur le critère de qualité.

L'algorithme

Monga optimise l'algorithme en utilisant des formules de réactualisation des paramètres³ peu coûteuses et une structure de données à mise à jour rapide (notamment pour gérer le classement des régions à fusionner sur le critère de qualité).

³décrivant les régions

II.6 Détecteurs de contours basés sur une approche hiérarchique

Dans cette section, nous présentons une approche dans laquelle les auteurs font coopérer plusieurs niveaux de représentation pour détecter les contours. Citons par exemple la méthode proposée par Camillerapp et Lebellegard [Camillerapp85], [Lebellegard87] dans laquelle les auteurs définissent une pyramide dont la base représente un contexte très local et le sommet le contexte le plus large pris en compte.

La détection de contours, proche de celle de Leplumey, est basée initialement sur un balayage ligne et colonne de l'image par un analyseur syntaxique. Des règles de réécriture sont ensuite appliquées aux différents niveaux de représentation contenus dans la pyramide pour mettre à jour les contours détectés. Trois niveaux de représentation sont proposés :

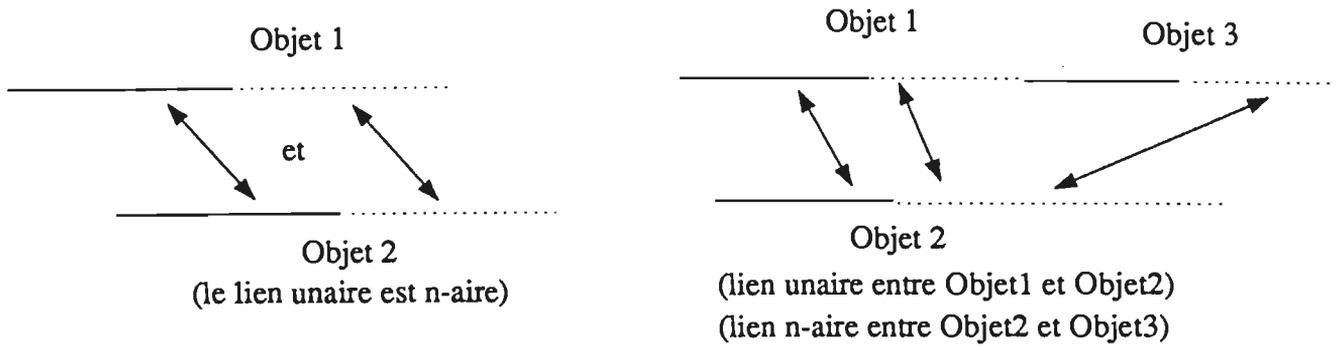
- (1) le niveau du pixel image.
- (2) le niveau du segment représentatif d'un contour (ie la monotonie croissante ou décroissante observée sur une ligne de l'image) et du point contour choisi dans ce segment
- (3) le niveau des primitives de détection (configurations de début de chemin, de fin de chemin et d'embranchement entre plusieurs chemins)

Au niveau 2, la donnée conjointe des segments contours, des points contours qui en sont issus et d'un lien n-aire entre segments permet de calculer un graphe de liaison entre points contours (voir figure II.16).

Au niveau 3, il privilégie certains des points détectés au niveau 2. Il s'agit notamment des points d'embranchement sur lesquels se posent les problèmes les plus sensibles : la détection des intersections entre contours. Ce passage à un niveau plus synthétique permet de spécifier plus facilement les règles caractérisant les contours que l'on désire obtenir (par exemple : supprimer des points contours isolés, effectuer la connection de points contours mal détectés,) tout en élargissant le contexte pris en compte.

II.7 Conclusion

Comme nous avons pu le constater dans cette revue bibliographique, les opérateurs de détection de contours intègrent de plus en plus de contexte pour effectuer leur analyse. Ceci permet de supprimer certaines erreurs et de lever des ambiguïtés. Mais en contrepartie les temps de calcul sont plus importants. Dans l'élaboration des solutions algorithmiques que nous avons mises au point, nous avons tenu compte des critères suivants :



Deux objets parallèles sont liés par un lien n-aire si :
 la partie droite de S1 et la partie droite de S2 sont 4-connexes
 ou
 la partie gauche de S1 et la partie gauche de S2 sont 4-connexes

↔ : lien de 4-connexité
 — : partie droite
 : partie gauche

Figure II.16 : Liens n-aires entre segments horizontaux et verticaux

- Simplicité de mise en oeuvre des opérateurs : en effet nous avons tenu à être indépendant de toute bibliothèque de traitement d'images existantes pour des raisons de portabilité de notre application. Tous les opérateurs mis en oeuvre dans ces solutions ont été écrits en langage C.
- Développement d'opérateurs permettant une automatisation maximale des tâches car l'outil mis au point doit réduire au minimum le temps d'interaction homme / machine.
- Développement d'opérateurs relativement peu coûteux en temps de calcul pour des raisons d'interactivité homme/machine.

Chapitre III

Individualisation des fibres sur la coloration de référence

Dans une première section, nous présentons l'algorithme d'Alain Denizon [Denizon86] dont nous nous sommes inspirés au départ de notre étude. Puis dans les sections suivantes, nous proposons notre approche basée sur la définition que nous nous sommes donnés du réseau inter-fibres en respectant les critères énoncés à la fin du chapitre précédent, à savoir : simplicité de mise en oeuvre, automatisation maximale des tâches et faible coût en temps de calcul.

III.1 Algorithme de Denizon

A. Denizon a travaillé sur l'extraction du réseau inter-fibres sur la coloration de référence à la Station de Recherche sur la Viande INRA de Clermont-Ferrand/Theix. Il a proposé un algorithme qui se décompose en six étapes :

- (1) Acquisition
- (2) Amélioration de la qualité de l'image
- (3) Extraction des contours
- (4) Suppression des artefacts
- (5) Fermeture des contours
- (6) Lissage final des fibres

III.1.1 Acquisition

Il acquiert deux images :

- l'image d'une diapositive représentant le réseau inter-fibres
- l'image d'une teinte uniforme (une feuille de papier par exemple) dans les mêmes conditions de prise de vue

III.1.2 Amélioration de la qualité de l'image

Il constate deux types de bruit sur ces images :

- **au niveau global** : il observe un bombé sur les coupes lignes des niveaux de gris de l'image du réseau et sur celles de l'image du fond. Ce bombé est vraisemblablement dû à un défaut d'éclairage du matériel employé.
- **au niveau local** : il observe un bruit de fond d'amplitude variable qui diminue les performances de son algorithme d'extraction de contours.

Il propose pour améliorer la qualité de l'image d'appliquer deux opérateurs corrigeant respectivement les deux types de bruits :

Correction du bombé Soit $f(x, y)$ la fonction image en niveaux de gris du fond numérisé, C la valeur constante attendue dans le cas où il n'y a pas de bombé, $r(x, y)$ l'image du réseau numérisé, alors l'image corrigée du réseau $rc(x, y)$ vaut :

$$rc(x, y) = \frac{C}{f(x, y)} * r(x, y)$$

C est défini comme suit : $C = \max_{(x,y)} f(x, y)$

Correction du bruit de fond Denison a utilisé un filtre d'atténuation du bruit qui préserve les transitions importantes [Wang81]. L'idée est de lisser l'image au pixel (x, y) par une matrice 3×3 de coefficients de valeur inversement proportionnelle au gradient :

En tout point (x, y) , on calcule pour $\alpha = -1, 0, 1$ et $\beta = -1, 0, 1$ la fonction Ω :

$$\begin{cases} \Omega(0, 0) & = 2 \\ \Omega(\alpha, \beta) & = \frac{1}{|f(x+\alpha, y+\beta) - f(x, y)|} \quad \text{si } f(x, y) \neq f(x + \alpha, y + \beta) \text{ et } (\alpha, \beta) \neq (0, 0) \\ \Omega(\alpha, \beta) & = 2 \quad \text{si } f(x, y) = f(x + \alpha, y + \beta) \end{cases}$$

Soit S coefficient de normalisation défini par :

$$S = \sum_{\alpha=-1}^1 \sum_{\beta=-1}^1 \Omega(\alpha, \beta) - \Omega(0, 0)$$

on obtient les coefficients de la matrice de convolution au pixel (x, y) par :

$$\begin{cases} \Pi(\alpha, \beta) &= \frac{1}{S} \Omega(\alpha, \beta) \\ \Pi(0, 0) &= \frac{1}{2} \end{cases}$$

Sur ces pré-traitements, nous faisons deux remarques.

Premièrement, il nous paraît déterminant de limiter le nombre de supports intermédiaires entre l'objet à analyser et son support final qui est l'image numérisée afin de minimiser les pertes d'informations. Nous numérisons donc directement les réseaux inter-fibres en plaçant la caméra sur la sortie photo du microscope plutôt que passer par l'intermédiaire d'une diapositive comme Denizon. Cette opération évite par ailleurs d'avoir les problèmes de bombé évoqués dans le chapitre 1 car l'éclairage du microscope est en général de bonne qualité (homogène sur l'ensemble de l'image).

Deuxièmement nous remettons en cause le filtre d'atténuation du bruit car il est beaucoup trop coûteux en temps calcul. Il faut en effet calculer pour chaque pixel les 9 coefficients de son masque de convolution et ce calcul implique des opérations en flottant.

III.1.3 Extraction des contours

Denizon a développé un opérateur d'extraction du réseau inter-fibres composé d'une phase de calcul de la dérivée du signal suivie d'une phase de reconnaissance des branches du réseau inter-fibres. Cet opérateur est appliqué aux lignes (resp. aux colonnes) de l'image en niveau de gris.

Soit L une ligne de l'image :

Phase 1 : Calcul de la dérivée

$$L'(i) = L(i + 1) - L(i) \forall i = 1, \dots, 511$$

Cette dérivée est seuillée afin de supprimer les petites variations non significatives :

$$S(i) = \begin{cases} L'(i) & \text{si } |L'(i)| \geq C \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

La constante C est choisie dans l'intervalle $[4, 7]$ selon l'amplitude globale de l'image. L'amplitude globale est définie comme la différence entre le niveau de gris maximum et le niveau de gris minimum dans l'image.

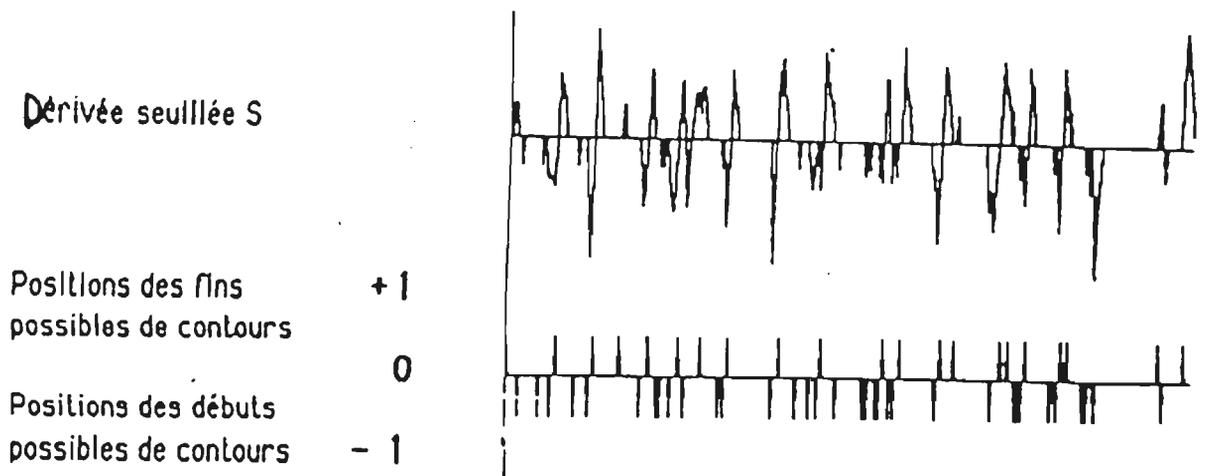


Figure III.1 : L'opérateur d'extraction du réseau inter-fibres de Denizon

Phase 2 : Reconnaissance de parois Il cherche à détecter les débuts (resp. les fins) de parois¹ qu'il définit comme étant les maximums locaux (resp. les minimums locaux) de la fonction S (voir figure III.1).

Il définit une fonction G représentative des parois :

$$G(i) = \begin{cases} -1 & \text{si } i \text{ est un début de paroi (max. local)} \\ +1 & \text{si } i \text{ est une fin de paroi (min. local)} \\ 0 & \text{dans les autres cas} \end{cases}$$

La séquence idéale reconnaissant une paroi est : $(-1\ 0^* +1)$ (0^* signifiant la valeur 0 répétée plusieurs fois). Malheureusement, des débuts (resp. des fins) de parois ont été éliminés dans l'étape de seuillage de la dérivée. Il est donc amené à statuer sur des configurations du type $(-1\ 0^* -1)$. Il introduit alors de la connaissance sur l'épaisseur des contours qu'il a observé :

Soit a la position du premier -1 sur la ligne analysée

Soit b la position du deuxième -1 sur la ligne analysée

Si $b - a \leq 5$ il considère que les 2 débuts de parois sont confondus

il ne retient que a

(la valeur 5 correspond à la largeur moyenne d'une paroi fine sur l'image)

Si $b - a > 5$ il recherche une fin de paroi dans l'intervalle $[a + 3, b - 3]$.

¹une paroi est définie comme étant l'épaisseur d'une branche du réseau inter-fibres

Il définit M comme :

$$M = \text{signe}(L'(i)) \max\{|L'(i)|, i \in [a + 3, b - 3]\}$$

Si $M > 0$ on définit une fin de paroi
à la position de M

Si $M < 0$ on doit supprimer l'un des 2 débuts de paroi

Si $b - a < 15$ on supprime le 2eme

sinon on supprime le 1er

(la valeur 15 correspond à la
largeur maximum d'une paroi)

Il analyse de la même manière les configurations du type $(+1 0^* +1)$ et $(+1 0^* -1)$

Dans notre approche, nous n'avons pas repris cet opérateur d'extraction des parois de l'inter-fibres. En effet, il faut régler manuellement plusieurs seuils pour obtenir une image binaire :

- seuil d'élimination du bruit dans le calcul de la dérivée
- seuils de largeur moyenne et maximale sur les parois

et nous n'avons pas trouvé d'informations sur la fiabilité de ces seuils.

De plus, cet algorithme basé sur l'analyse structurale des lignes est voisin de celui d'Ivan Leplumey [Leplumey86]². Il nous semble que l'algorithme de Leplumey est plus riche car il gère mieux les interactions entre balayage ligne et colonnes par l'utilisation de liens unaires et n-aires qui permet d'envisager par la suite un calcul naturel du squelette.

III.1.4 Suppression des artefacts

A cette étape, nous avons une image binaire du réseau inter-fibres obtenu par union des balayages ligne et colonne effectués par l'opérateur d'extraction des parois.

Denizon constate que son algorithme génère des contours parasites, des inclusions blanches dans les fibres et des inclusions noires dans l'inter-fibres.

Il applique une fermeture morphologique de taille 2 pour supprimer les branches parasites. Puis, il applique un opérateur qui calcule la surface d'une composante connexe en faisant croître un germe appartenant à la composante. De cette manière, il supprime les composantes connexes blanches de taille inférieures à 100 pixels (inclusions blanches dans les fibres) et les composantes connexes noires de taille inférieures à 100 pixels (inclusions noires dans les fibres).

²que nous avons présenté dans le chapitre de bibliographie

III.1.5 Fermeture des contours

Denizon constate qu'un certain nombre de branches du réseau sont cassées. Il cherche donc à détecter les ruptures dans le réseau et à les supprimer. Pour cela, il applique à l'image binaire l'algorithme de squelettisation par affinage itératif de Pavlidis [Pavlidis82]. Sur cette image squelettisée, il cherche ensuite à déterminer les points extrêmités de branches. Il considère le 8-voisinage de chaque pixel $q(l, c)$ du squelette et calcule la fonction :

$$S = \sum_{i=-1}^1 \sum_{j=-1}^1 q(l+i, c+j)$$

avec $q(l, c) = 0$ quand le pixel appartient au fond
 $q(l, c) = 1$ sinon

Si $S = 1$ alors le point est dit *extrêmité*
 Si $S > 2$ alors le point est appelé *noeud*

Pour fermer la branche il regarde dans un secteur angulaire à partir du point extrêmité s'il trouve un point du squelette (voir figure III.2). L'axe de symétrie de ce secteur angulaire est défini par la droite passant par le point extrêmité et le premier noeud rencontré en remontant la branche à partir du point extrêmité. L'angle du secteur angulaire est fixé expérimentalement à 30 degrés. Le rayon du secteur angulaire est équivalent à la moitié de la longueur moyenne des branches.

III.1.6 Lissage final des fibres

Dans cette dernière étape, Denizon cherche à éliminer les aspérités présentes sur les contours intérieurs des fibres. Il effectue un lissage morphologique des fibres de la manière suivante :

Pour chaque fibre :

- (1) Repérage d'une fibre par balayage ligne de l'image
- (2) Suivi du contour de la fibre
- (3) Mise en mémoire tampon de cette fibre
- (4) Ouverture de taille 8 dans l'image tampon
- (5) Suivi du contour de la fibre lissée
- (6) Effacement de la fibre dans l'image initiale
- (7) Ecriture de la fibre lissée dans l'image initiale

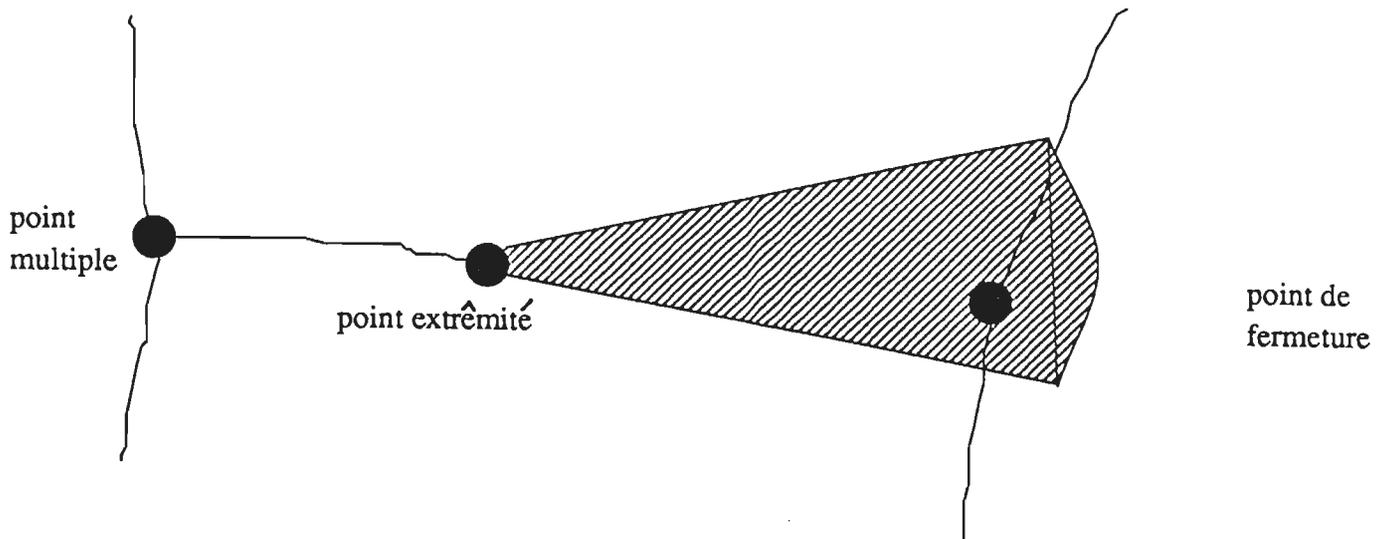


Figure III.2 : L'opérateur de fermeture de branches de Denizon

III.1.7 Conclusion

D'après les résultats chiffrés présentés par Denizon, cet algorithme paraît donner des résultats satisfaisants : sur un ensemble de 6 images, le taux de branches erronées est inférieur à 1%. Malgré ce résultat positif, il nous a semblé important de reprendre l'étude d'individualisation des fibres pour essayer de limiter le nombre de seuils utilisés par Denizon et afin de pouvoir traiter les deux types de colorations qui nous concernent (Denizon n'a travaillé que sur la coloration de référence).

Nous proposons dans les sections suivantes une solution complètement revue dans laquelle nous avons intégré plusieurs idées utilisées par Denizon (élimination des artefacts et fermeture des branches à courte distance).

Partant de l'image numérisée brute, nous allons d'abord réaliser des prétraitements pour normaliser l'image afin qu'elle vérifie les hypothèses de la définition du réseau inter-fibres (section III.2). Par la suite, nous proposons une méthode d'extraction s'appuyant sur ces hypothèses (section III.3). Pour obtenir le résultat final, où par définition toutes les branches sont interconnectées, on propose un algorithme de fermeture de branches se basant sur les squelettes binaires et en niveaux de gris (section III.4). En conclusion de cette partie (section III.5), on parlera des traitements postérieurs à l'algorithme d'extraction (validation du réseau et restitution d'épaisseur).

III.2 Normalisation des images

On suppose dans la définition du réseau que nous nous sommes donnée (chapitre 1) que les objets fins composant le réseau sont bien contrastés par rapport au fond. L'opération de prétraitement présentée dans cette section a pour but de renforcer ce contraste.

Ce prétraitement se justifie parce qu'il améliore de manière très significative la binarisation opérée par la suite. En effet, le calcul du seuil de binarisation est obtenu à partir du gradient moyen sur l'ensemble de l'image. Pour améliorer le contraste, nous avons repris une procédure habituellement utilisée pour améliorer la visualisation des images : l'égalisation d'histogramme (sous-section III.2.1). Dans notre application, nous nous appuyons sur des propriétés caractéristiques de nos images pour obtenir un effet local : l'amélioration du contraste sur les transitions fibres/inter-fibres (sous-section III.2.2)

III.2.1 Egalisation d'histogramme

L'égalisation d'histogramme renforce le contraste de l'image en modifiant l'histogramme des niveaux de gris des pixels [Gonzalez87]. Considérons la fonction T qui transforme la valeur r du pixel en s :

$$s = T(r)$$

On supposera que T est monotone croissante sur l'intervalle $[0, 255]$. Supposons que la variable niveaux de gris soit continue. Les niveaux de gris initiaux et transformés peuvent être caractérisés par leur fonction de densité de probabilité que nous appellerons $p_r(r)$ et $p_s(s)$. L'allure de cette fonction est révélatrice des qualités de contraste de l'image. Par exemple, sur la figure III.3(a), on observe une image qui a peu de contraste et qui est plutôt noire car la plupart des pixels sont concentrés dans les valeurs noires de l'histogramme alors que sur la figure III.3(b), on observe également une image peu contrastée mais dont la plupart des pixels ont des valeurs dans les blancs.

La théorie des probabilités nous donne une relation entre les deux fonctions de densité :

$$p_s(s) = \left[p_r(r) \frac{dr}{ds} \right]_{r=T^{-1}(s)} \quad (4)$$

Considérons la fonction de transformation suivante :

$$s = T(r) = \int_0^r p_r(w) dw \text{ avec } 0 \leq r \leq 255$$

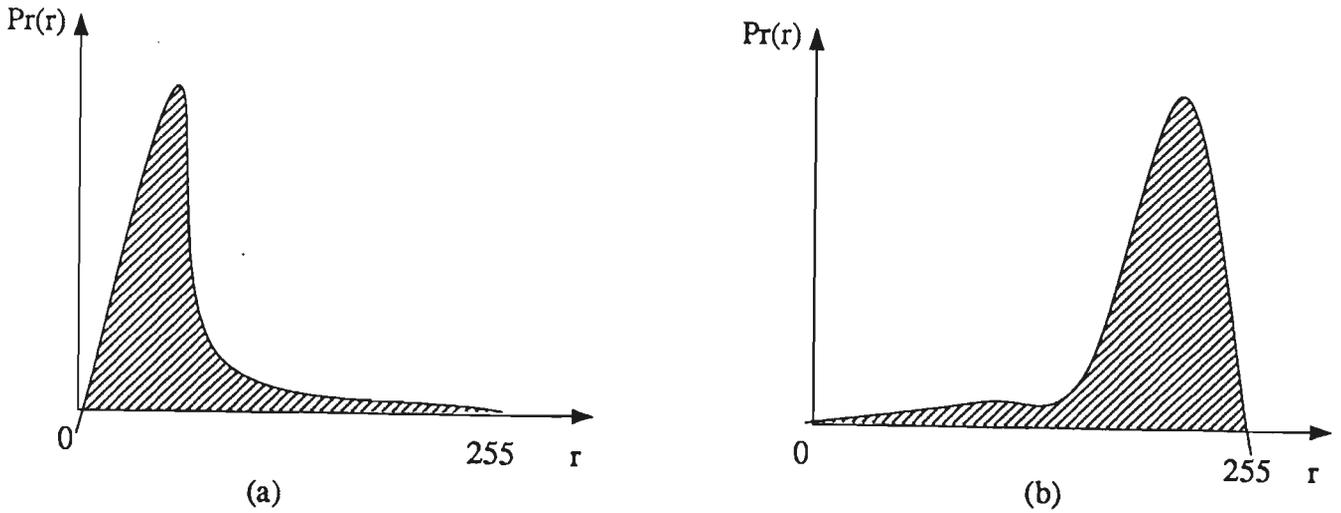


Figure III.3 : Deux exemples d'histogrammes des niveaux de gris d'images mal contrastées

Cette fonction est la fonction de distribution cumulée. Elle est bien monotone croissante sur $[0, 255]$. Sa dérivée par rapport à r est :

$$\frac{ds}{dr} = p_r(r)$$

En substituant $\frac{ds}{dr}$ dans l'équation 4, on obtient :

$$p_s(s) = \left[p_r(r) \frac{1}{p_r(r)} \right]_{r=T^{-1}(s)} \left[1 \right]_{r \in T^{-1}(s)} \quad 1 \text{ pour } 0 \leq s \leq 255 \quad (5)$$

On voit donc que l'on obtient une fonction de distribution uniforme des valeurs de niveaux de gris lorsque l'on applique une fonction de transformation égale à la distribution cumulée de p_r . Le meilleur étalement des niveaux de gris sur l'histogramme améliore le contraste globalement sur l'image.

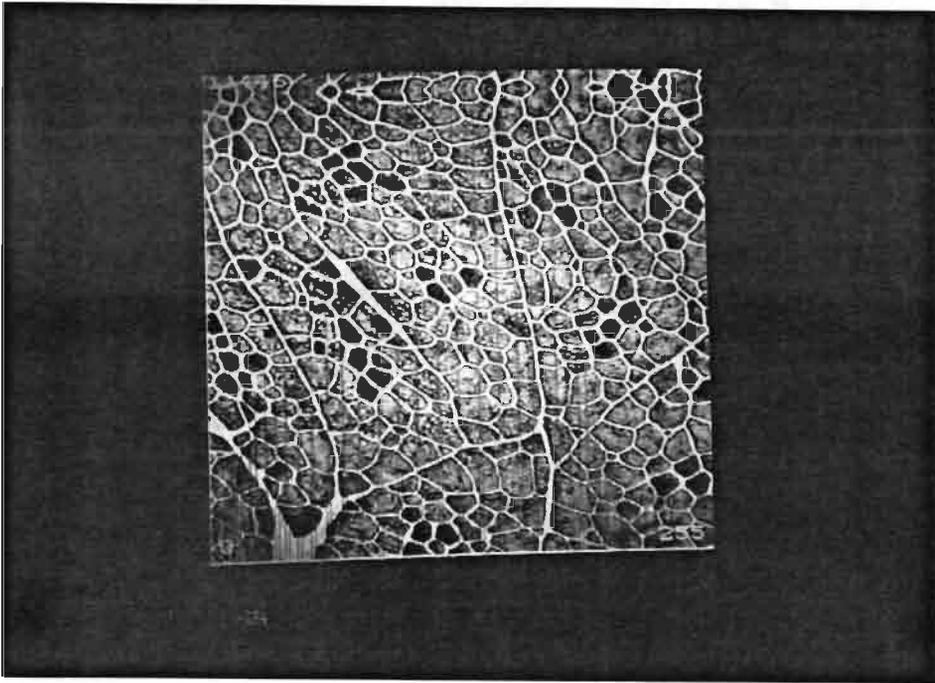


Figure III.4 : Coloration de référence après amélioration du contraste. L'histogramme des niveaux de gris des pixels apparaît en surimpression rouge.

III.2.2 Application particulière de l'égalisation d'histogramme

On redistribue les niveaux de gris en utilisant comme fonction de transfert la fonction de répartition cumulée. Cette transformation opérée globalement sur l'image est généralement considérée comme intéressante pour améliorer la visualisation. En fait, nous utilisons des *effets de bords* locaux de cette transformation.

La plage des niveaux de gris associée aux pixels appartenant aux branches du réseau inter-fibres (aux valeurs de luminances élevées) est réduite par l'égalisation d'histogramme car elle est composée de relativement peu de pixels. La pente de la fonction de transfert y est inférieure à 1. Les pixels appartenant au réseau inter-fibres deviennent donc en moyenne plus blancs (voir figure III.5). De façon similaire, nous avons constaté expérimentalement que les pixels formant le bord extérieur du fond (ie. des fibres) correspondent au début de la fonction de répartition dont l'étendue se réduit également. L'effet conjoint de ces deux concentrations vers les extrémités de l'histogramme provoque une augmentation de l'amplitude des transitions réseau-fond. D'autre part, cette transformation, appliquée globalement sur l'image, permet d'obtenir des améliorations du contraste local parce que le nombre de pixels de luminance élevée appartenant aux branches et le nombre de pixels de luminance faible appartenant au bord extérieur du fond sont en nombre suffisant pour influencer l'égalisation d'histogramme. On peut constater les remarques que nous venons de faire sur les images II.4 et III.4 qui illustrent cette transformation.

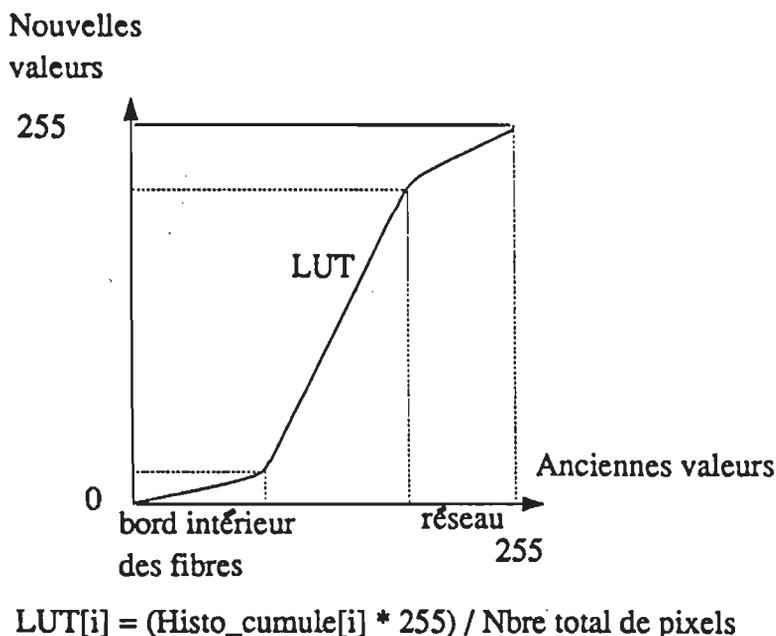


Figure III.5 : Egalisation d'histogramme

III.3 Extraction du réseau

Nous supposons dans notre définition que les images de réseaux bénéficient de propriétés de bon contraste objet-fond et d'homogénéité des luminances sur l'ensemble de l'image. Nous nous sommes tournés vers la mise au point d'un algorithme de seuillage automatique qui restitue la majeure partie du réseau inter-fibres (sous-section III.3.1). Cette binarisation génère du bruit qui doit être éliminé. Nous définissons le type de bruit rencontré et les méthodes d'élimination dans la sous-section III.3.2.

III.3.1 Binarisation du réseau

La caractéristique essentielle des objets qui nous intéressent étant une bonne différenciation par rapport au fond, nous avons cherché à mettre au point une méthode de binarisation. Pour les raisons évoquées dans le chapitre de bibliographie (chapitre 2), nous n'avons pas utilisé d'opérateur basé sur l'histogramme des luminances.

Par contre, il nous a semblé intéressant d'exploiter le bon contraste objet-fond et l'absence de dérive de luminosité (due à l'utilisation de sources lumineuses de bonne qualité sur les microscopes) en essayant de déterminer automatiquement la luminance de passage objet-fond. Pour cela, nous nous sommes inspirés de la méthode proposée par [Kohler81] qui détecte sur quelle luminosité se produit en moyenne le gradient le plus fort, c'est à dire le gradient de passage fond-objet. Le seuil de binarisation sera

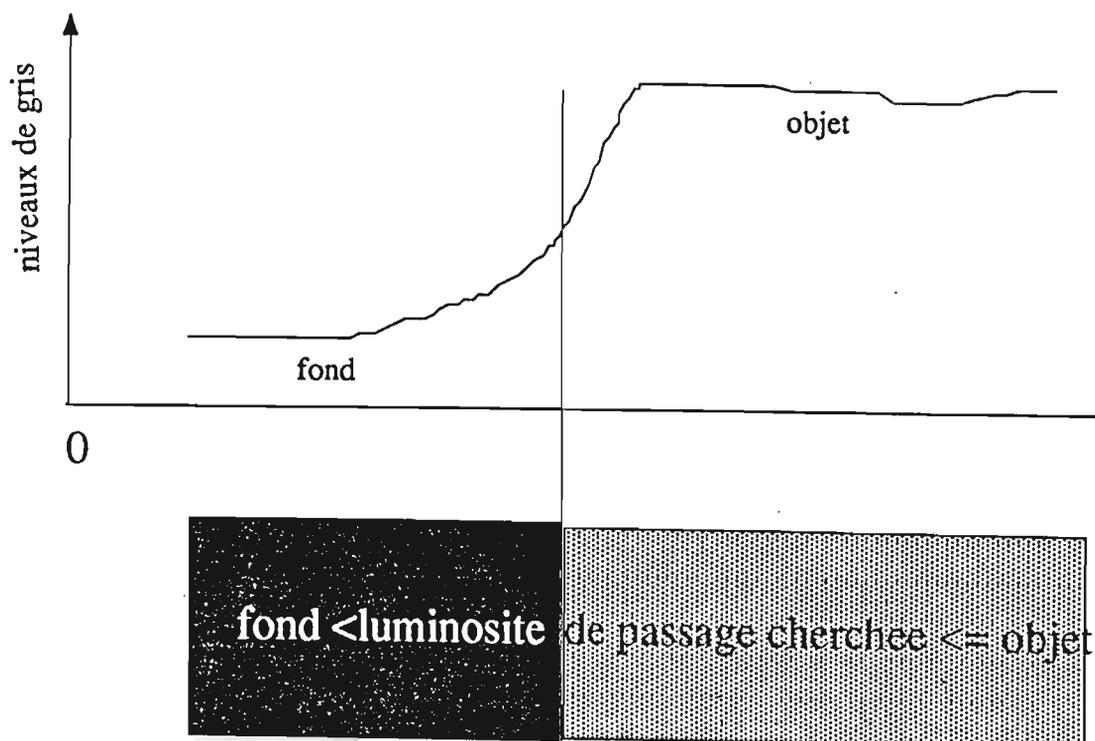


Figure III.6 : Luminance de passage objet-fond

cette luminosité (voir figure III.6).

Pour obtenir l'information gradient, nous avons travaillé sur une approximation discrète de type Sobel, soit pour un pixel noté * :

$$\begin{array}{ccc} A3 & A2 & A1 \\ A4 & * & A0 \\ A5 & A6 & A7 \end{array}$$

avec $A0, \dots, A7$ représentant les valeurs des luminances des 8 voisins du pixel considéré, on a :

$$\text{grad}X = (A1 + 2A0 + A7) - (A3 + 2A4 + A5)$$

$$\text{grad}Y = (A3 + 2A2 + A1) - (A5 + 2A6 + A7)$$

$$\text{module} = \sqrt{(\text{grad}X^2 + \text{grad}Y^2)/32}$$

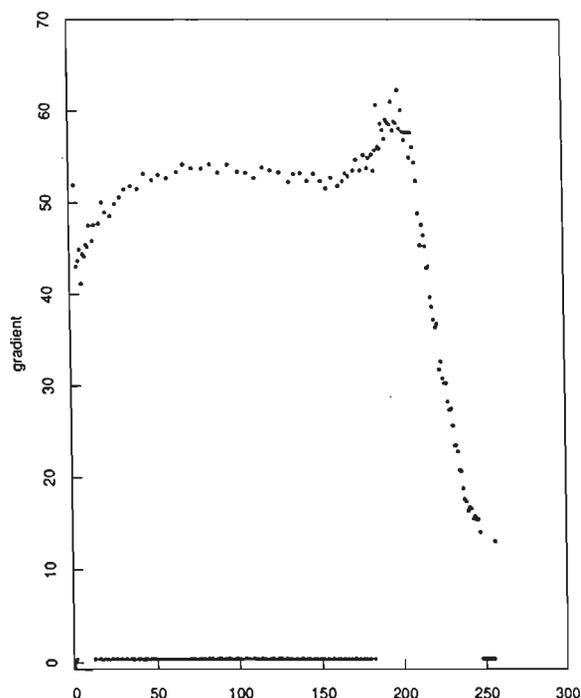


Figure III.7 : Gradients moyens par niveau de gris et détermination du seuil

L'algorithme de binarisation est le suivant:

- Calculer pour chaque pixel son gradient
- Par niveau de gris, calculer le gradient moyen
- Définir le seuil de binarisation comme étant le niveau de gris ayant le gradient moyen maximum (voir figure III.7)
- Tous les points ayant une luminosité inférieure ou égale à cette valeur deviennent noirs (fond), les autres blancs (réseau)

Nous terminerons cette sous-section par quelques remarques sur l'algorithme de binarisation employé :

- Nous avons choisi la méthode de Kohler car elle détermine le seuil de binarisation automatiquement. Ce seuil est calculé par optimisation du critère de contraste moyen sur l'ensemble de l'image. Nous tirons ainsi parti d'une propriété intéressante des images traitées.
- Nous avons choisi la racine carrée pour le calcul du module du gradient car cette mesure est isotrope et a un effet lisseur qui amoindrit l'influence du bruit

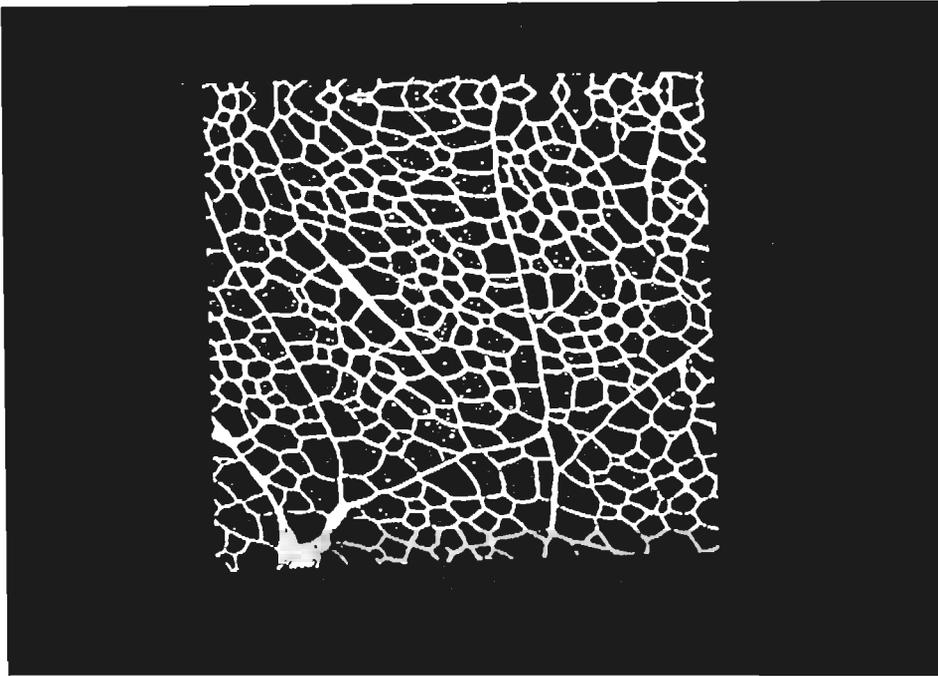


Figure III.8 : Réseau binarisé

introduit par l'égalisation d'histogramme. Par contre, les autres mesures classiques (maximum ou somme des valeurs absolues des amplitudes en X et en Y) ont un comportement anisotrope (pour un même contour, selon que son orientation est à 45 ou à 0 degré, on obtient une amplitude différente).

- Nous avons exploité la propriété d'homogénéité de l'éclairage sur l'ensemble de l'image en opérant une binarisation globale. Le fait de pouvoir travailler sur la totalité de l'image renforce la robustesse du seuil calculé.
- En dernière remarque, nous noterons que la binarisation est imparfaite mais la majeure partie de l'information réseau est présente. Par la suite, nous nous sommes donc attachés à améliorer la qualité de l'image binarisée en éliminant le bruit du à la binarisation.

L'image de la figure III.8 montre le résultat de la binarisation.

III.3.2 Elimination du bruit apparu à la binarisation

Le bruit

Suite à la binarisation, on observe des inclusions blanches dans le fond et des ruptures ou de petites inclusions noires dans le réseau. Ces imperfections proviennent du bruit contenu dans l'image en niveaux de gris amplifié à l'étape d'augmentation

de contraste. Toutefois, l'augmentation de contraste n'est pas remise en cause car le bruit généré peut être largement éliminé comme nous allons le voir dans cette sous-section. Par contre, la suppression de la procédure d'amélioration de contraste avant la binarisation provoque la perte d'une partie du réseau inter-fibres.

Élimination des inclusions blanches dans le fond

Nous éliminons les composantes 4-connexes blanches de petite taille (taille inférieure à 50 pixels) contenues dans l'image. Ce seuil n'est pas un paramètre critique étant donné que le réseau est supposé être une composante connexe de grande taille. Toutefois, on choisira une taille d'une part suffisamment grande pour supprimer la totalité des inclusions blanches dans le fond et d'autre part pas trop importante afin de limiter le nombre de fermetures de branches à effectuer par la suite.

Élimination des petites inclusions noires dans le réseau

Afin d'éliminer les petites cassures dans le réseau, on réalise une fermeture morphologique binaire avec un élément structurant carré 5×5 . Le filtre a été implémenté en tenant compte des propriétés de séparabilité des filtres morphologiques [Serra82] : on se ramène donc à un calcul en $O(2n)$ au lieu de $O(n^2)$. Cette étape n'a pour objectif que la fermeture des petites cassures qui ne nécessitent pas l'utilisation d'un algorithme plus coûteux (étapes suivantes). Pour cette raison et également pour ne pas combler les petites zones de fond, la taille de l'élément structurant est choisie petite.

Les images III.9 et III.10 illustrent l'application successive de ces deux transformations.

III.4 Fermeture des branches du réseau

A cette étape, l'image binaire obtenue ne contient plus de bruit de binarisation. Par contre, un nombre important de branches du réseau est cassé. Pour réaliser la fermeture de ces branches, on va s'appuyer sur deux sources d'information :

- Le squelette de l'image binarisée : il contient trois sortes de branches (fermées, semi-ouvertes ou ouvertes) d'épaisseur unité (voir figure III.4).
- L'image des crêtes en niveau de gris : elle contient l'intensité en niveau de gris des objets fins (donc des branches) de l'image initiale. Elle nous servira pour guider la fermeture des branches du squelette binaire.

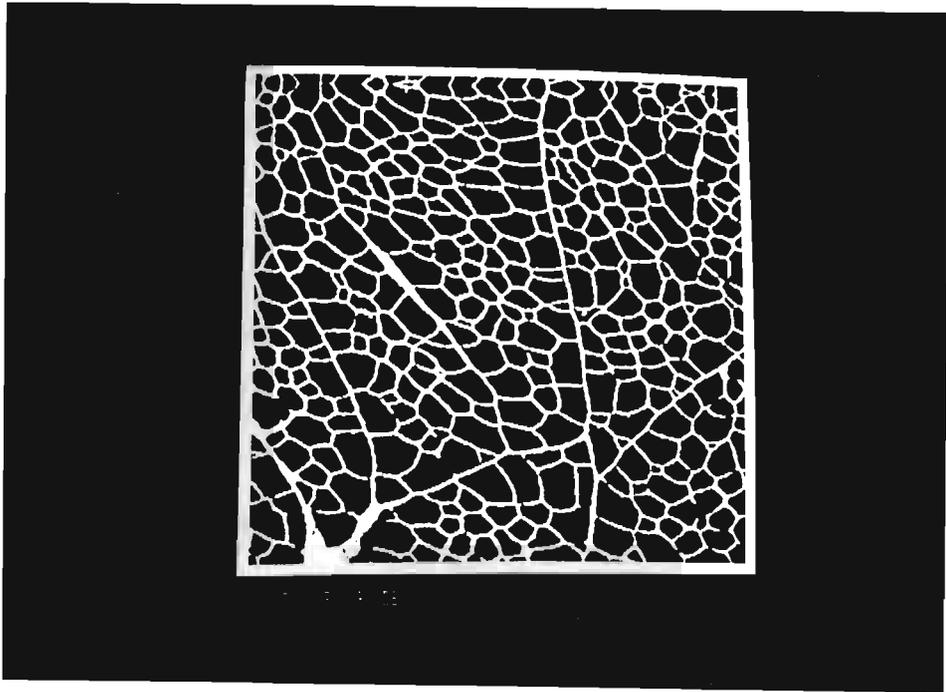


Figure III.9 : Elimination des petites composantes connexes sur le réseau binarisé

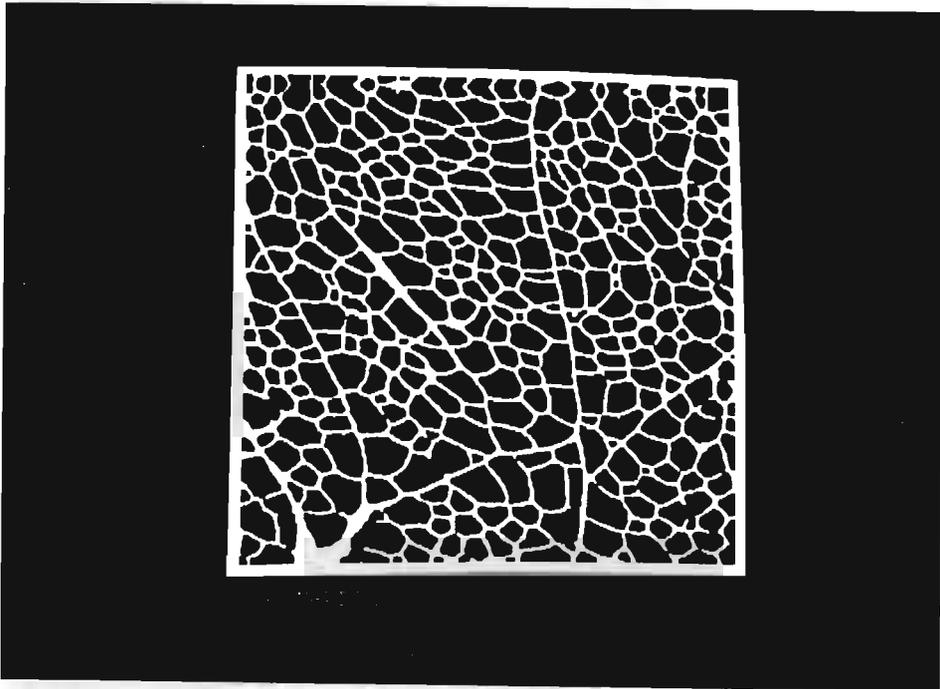


Figure III.10 : Fermeture morphologique sur le réseau binarisé

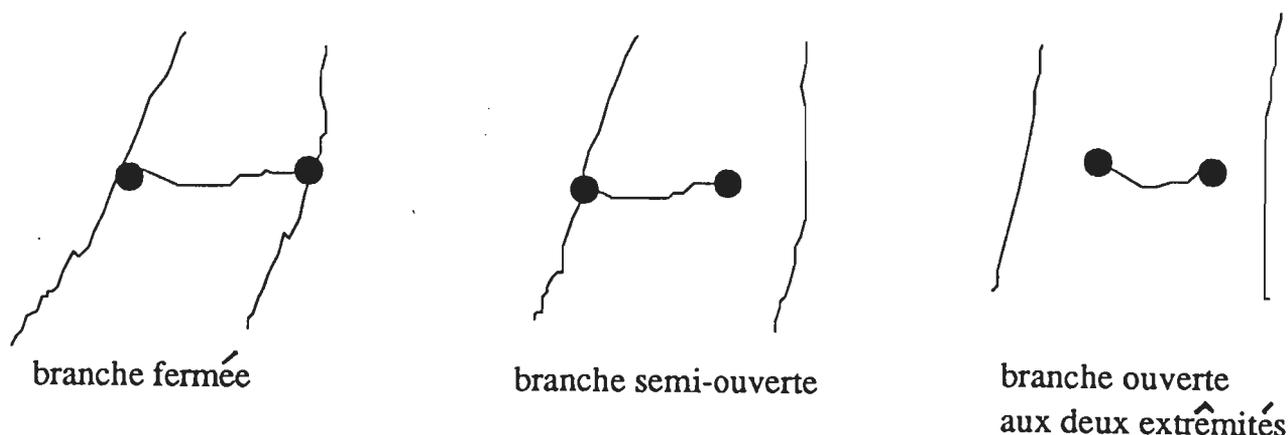


Figure III.11 : Les trois types de branches

Les paragraphes suivants décrivent les algorithmes d'obtention de l'image des crêtes (sous-section III.4.1), du squelette binaire (sous-section III.4.2), l'ébarbulage du squelette binaire (sous-section III.4.3), puis les étapes de fermeture : fermeture à courte distance (sous-section III.4.4) et fermeture à longue distance (sous-section III.4.5).

III.4.1 Calcul de l'image des crêtes

Sur l'image en niveau de gris initiale, on veut extraire la crête des objets fins. On considère l'image comme un relief montagneux. Les branches du réseau représentent les lignes de crêtes qui délimitent les vallées. L'altitude de la crête correspond à la valeur des niveaux de gris (voir la figure II.14 dans le chapitre 2).

Pour obtenir cette image, nous nous sommes inspirés de l'algorithme proposé par Jean Camillerapp et Ivan Leplumey [Camillerapp84], [Leplumey86] pour détecter des objets fins. Un objet fin se modélise par la succession d'une montée, d'un plat et d'une descente rencontrés sur une ligne ou une colonne de l'image (voir figure III.13). On peut décrire la procédure d'extraction de ces objets avec une grammaire régulière reconnaissable par un automate d'états finis.

Description de la grammaire utilisée :

- **L'alphabet terminal** est composé de 3 éléments $\{m, p, d\}$ représentant montée, plat et descente. Ces éléments sont obtenus après analyse de 2 pixels consécutifs d'une même ligne :
 - si $luminosité(j) < luminosité(j + 1)$ on a une montée
 - si $luminosité(j) = luminosité(j + 1)$ on a un plat
 - si $luminosité(j) > luminosité(j + 1)$ on a une descente
- **L'alphabet auxiliaire** est composé de 5 éléments $\{ligne, I, M, D, \#\}$:
 - *ligne* représente une ligne image
 - *I* représente l'état d'amorçage au début de chaque ligne
 - *M* représente les montées
 - *D* représente les descentes
 - *#* représente la fin de ligne

Le graphe des états de l'automate qui reconnaît les mots de cette grammaire est donné dans la figure III.12. L'état initial de l'automate est *ligne*. L'état final est *F*.

L'image des crêtes est la restitution sur une image résultat des points de luminosité maximum des objets détectés en ligne et en colonne auxquels on affecte le maximum du contraste gauche et du contraste droit (voir figure III.14). L'implémentation de cet opérateur est simple à réaliser. De plus, on obtient l'image des crêtes en 2 passages sur l'image (un passage en ligne et un en colonne) quelle que soit l'épaisseur des objets. Enfin, nous n'imposons pas de contraste minimum pour détecter les objets car nous ne nous servons de l'image des crêtes qu'au travers de masques.

L'image de la figure III.15 est le résultat de cette transformation appliquée à l'image en niveaux de gris.

III.4.2 Calcul du squelette binaire

Sur l'image binaire débruitée, on applique un algorithme d'amincissement itératif [Coster85] choisi pour sa propriété d'homotopie : il préserve la connexité de l'image de départ et produit un squelette 8-connexe composé de branches d'épaisseur unité. L'algorithme s'effectue comme suit :

Tant que non idempotence

 Pour toute l'image

 Pour chaque élément structurant de la famille de voisinage :

 0 0 0

 . 1 . en ligne et en colonne

 1 1 1

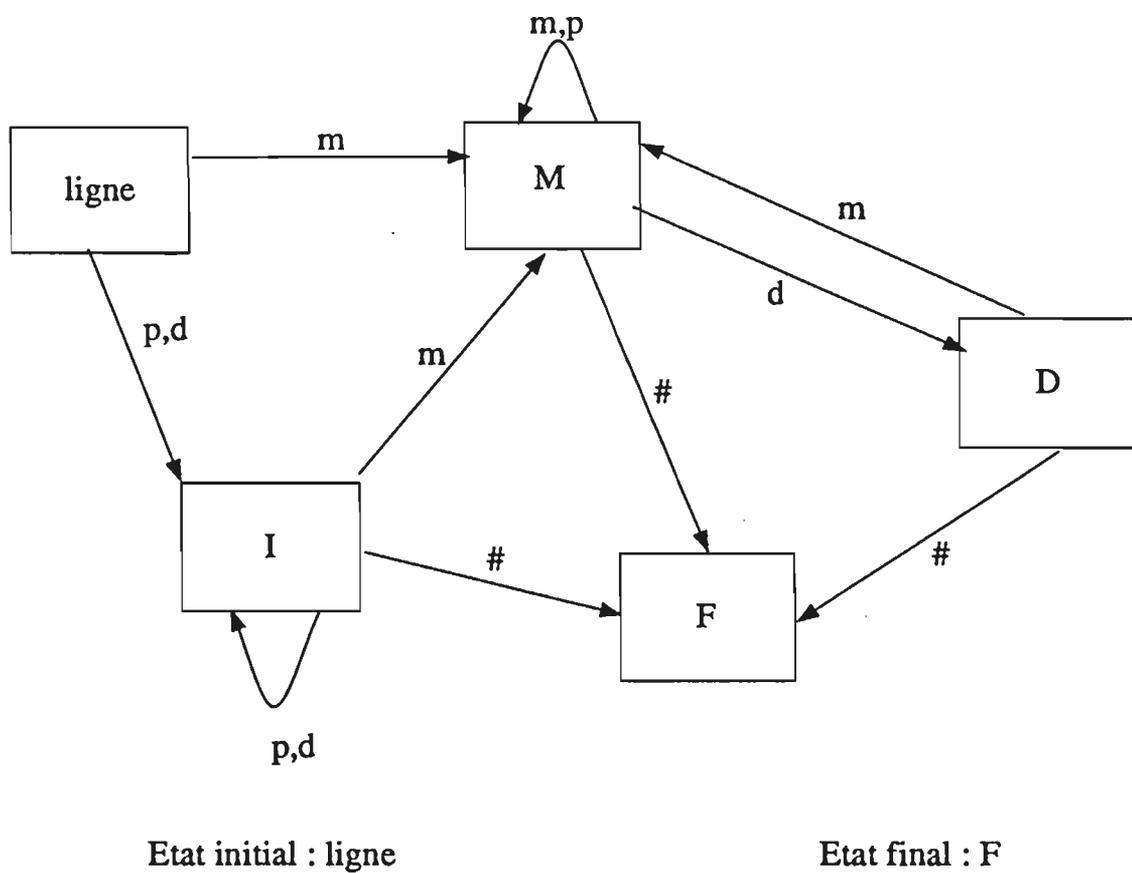
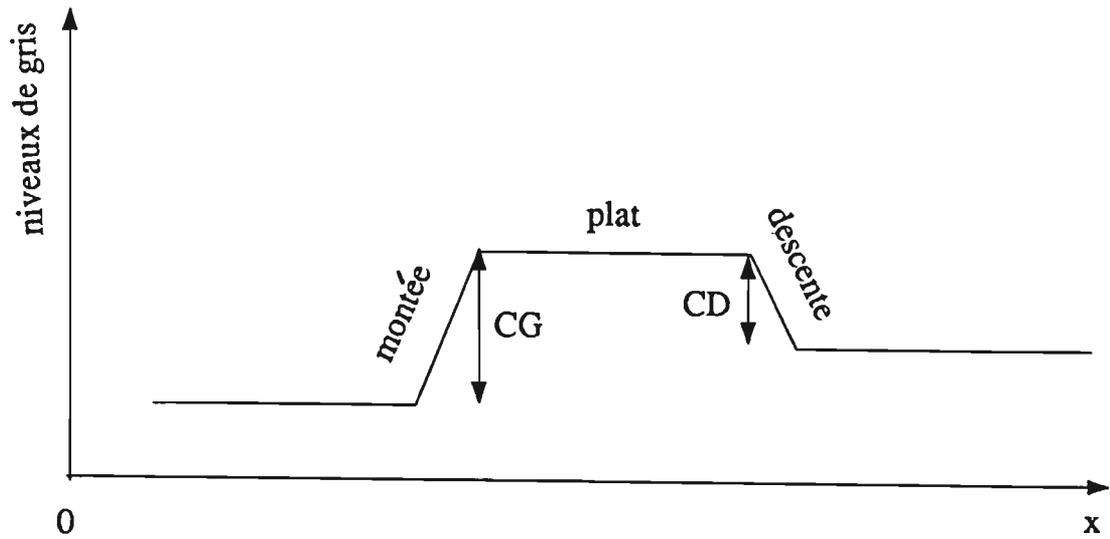


Figure III.12 : Le graphe des états de l'automate de reconnaissance des objets fins



CG : contraste gauche, CD : contraste droit

Figure III.13 : Détection d'un objet fin

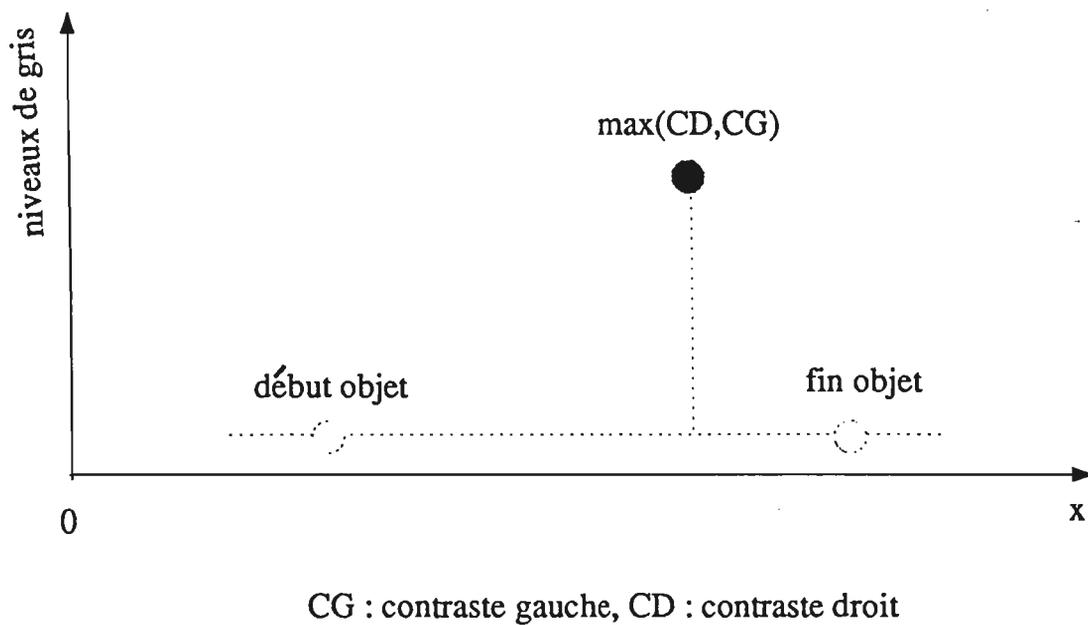


Figure III.14 : L'image des crêtes : on restitue le maximum du contraste gauche et droit sur le point de luminosité maximale dans l'objet

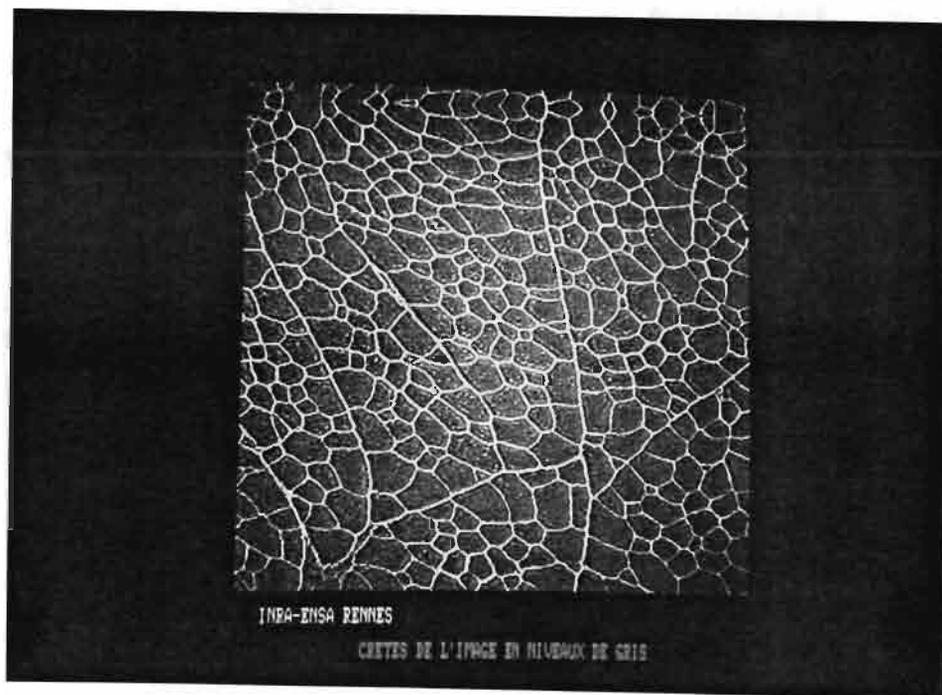


Figure III.15 : Image des crêtes

et de la famille de voisinage :

```

. 1 .
1 1 0 en ligne et en colonne :
. 0 0

```

Amincir l'image avec l'élément structurant considéré
fin

fin

fin

L'image de la figure III.16 illustre le résultat de cette transformation.

III.4.3 Ebarbulage du squelette binaire

Le squelette binaire produit par l'opérateur d'amincissement contient des barbules, branches ouvertes aux deux extrémités ou semi-ouvertes (un point noeud et un point extrémité) qui ne correspondent pas à une branche du réseau. L'ébarbulage consiste à éliminer les branches aberrantes qui vérifient l'un des deux critères :

- Un critère de longueur : on supprime les branches de longueur inférieure à 3 pixels.
- Un critère de luminance moyenne sur la branche : on définit la *crête moyenne* d'une branche comme étant la moyenne des niveaux de gris associés à ses points

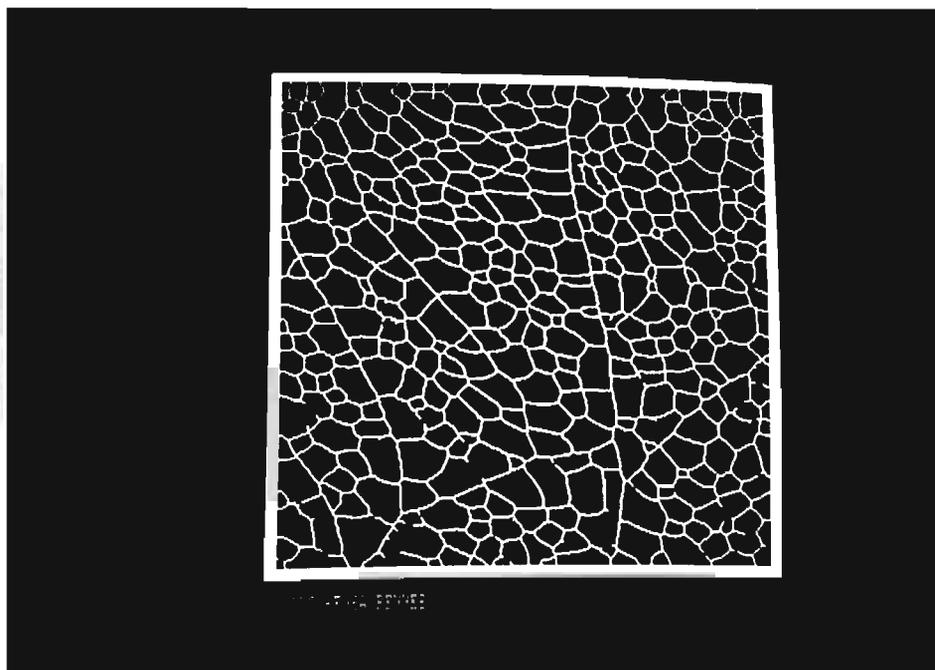


Figure III.16 : Squelettisation par amincissement du réseau binarisé

dans l'image des crêtes. Il faut déterminer à partir de quelle valeur cette crête moyenne est significative (dans ce cas, la branche est conservée sinon elle est éliminée). Le seuil choisi est volontairement bas: c'est la luminance dans l'image crête qui maximise le produit $h(lum) * lum$ avec $lum \in [0 \dots 255]$, intensité lumineuse et $h(lum)$ le nombre de pixels ayant l'intensité lum dans l'image crête. Le choix de ce seuil est intuitif, il repose sur l'idée que l'on se fait des branches du réseau inter-fibres dans l'image crête. Elles représentent la majeure partie des points crêtes affectés d'une valeur de luminosité élevée. Ce critère permet d'éliminer de longues branches non significatives.

L'image de la figure III.17 illustre cette opération d'ébarbulation.

III.4.4 Fermeture à courte distance

Nous avons développé un algorithme inspiré de [Denizon86] qui ferme les branches dont les extrémités ne sont distantes que de quelques pixels. La méthode est la suivante :

Pour chaque extrémité de branche :

- Calculer l'axe principal d'inertie pondéré par les valeurs de crêtes
- Regarder dans la direction donnée par cet axe principal d'inertie si dans un petit voisinage (rectangle de longueur 10



Figure III.17 : Ebarbulage du squelette du réseau binarisé

et de largeur 7)

il existe au moins un point du squelette.

Si oui, tracer une droite dans le prolongement de la branche entre le point extrémité et le point le plus proche du squelette.

Méthode de calcul de l'axe d'inertie [Postaire87] :

Calculer les coordonnées du centre de gravité de la branche

Centrer les coordonnées des points de la branche en leur soustrayant celles du centre de gravité

Multiplier la matrice des coordonnées centrées des points de la branche par sa transposée en pondérant par les valeurs de crête notées w_i :

soient $X = [x_1, \dots, x_n]$ et $Y = [y_1, \dots, y_n]$, on calcule la matrice

c_1	c_2
c_2	c_3

$$\begin{aligned} c_1 &= \sum_{i=1}^n x_i^2 * w_i \\ \text{tel que } c_2 &= \sum_{i=1}^n x_i * y_i * w_i \\ c_3 &\geq \sum_{i=1}^n y_i^2 * w_i \end{aligned}$$

Extraire la plus grande valeur propre de cette nouvelle matrice en passant par le polynôme caractéristique [Jardrin88]

En déduire le vecteur propre associé, ce qui donne la pente de l'axe d'inertie

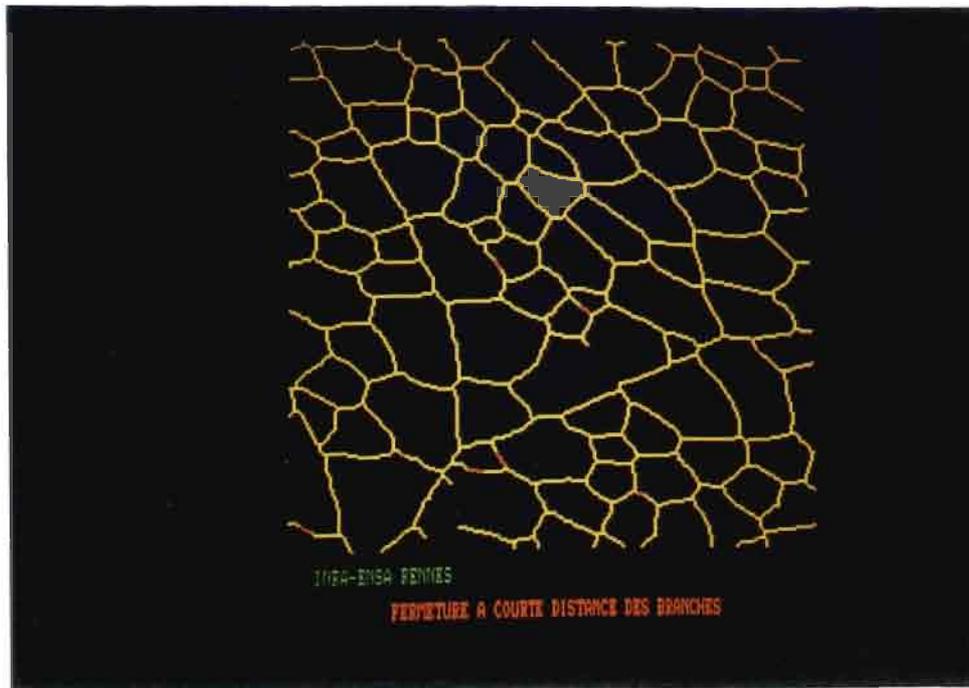


Figure III.18 : Fermeture à courte distance des branches du réseau binarisé. Les branches fermées sont en rouge.

L'image de la figure III.18 est un zoom sur une région de l'image dans laquelle on a visualisé dans deux couleurs différentes le squelette ébarbulé et les fermetures à courte distance opérées.

III.4.5 Fermeture à longue distance

Nous avons mis au point un algorithme de suivi de points crêtes par programmation dynamique inspiré de [Bertrand87] pour fermer les branches à longue distance. Il s'agit en partant d'une extrémité de branche d'explorer des chemins possibles et de progresser en conservant au fur et à mesure le chemin qui va maximiser la crête moyenne de la branche rajoutée. En fait les cinq meilleurs chemins au sens de la crête moyenne sont conservés et on stoppe sur la meilleure fermeture. Si l'on a progressé trop loin, on stoppe sans fermer (il y a un niveau limite de 50 pixels rajoutés).

A chaque nouveau point de chaînage, le programme scrute les trois voisins qui sont devant lui dans la direction donnée par l'axe d'inertie de la branche. Il chaîne avec le point apportant la meilleure crête (voir figure III.19).

Le processus s'exécute sur l'extrémité de chacun des cinq meilleurs chemins à un instant donné. La fermeture n'est validée que si la branche concernée a une *crête*

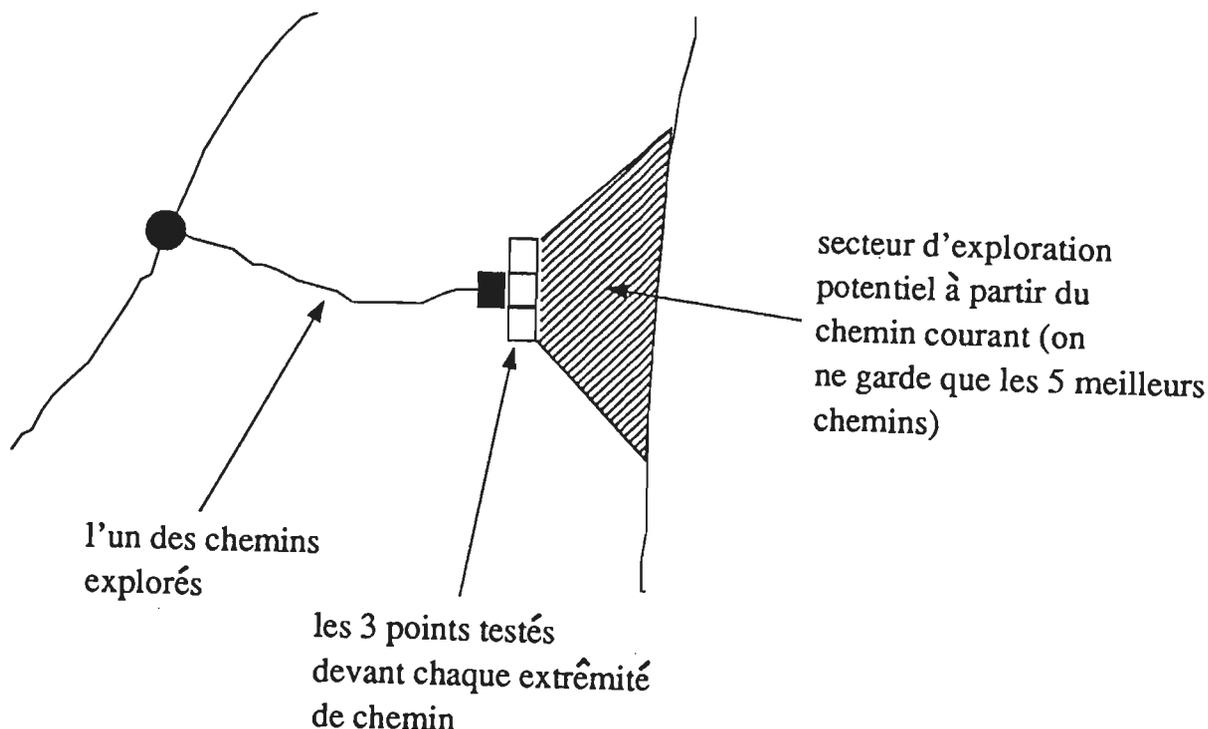


Figure III.19 : Suivi de branche à longue distance

moyenne supérieure au seuil défini dans la sous-section III.4.3.

Sur l'image de la figure III.20, on observe sur une région de l'image zoomée le résultat de la fermeture à longue distance.

III.5 Conclusion

III.5.1 Correction interactive du réseau obtenu

Il nous a semblé utile à ce stade du traitement d'inclure une phase de correction interactive des résultats car le squelette extrait n'est pas correct à 100 %. Un opérateur humain intervient donc au moyen d'une souris pour supprimer les branches erronées et rajouter les branches oubliées. Pour faire ce travail, l'opérateur dispose en surimpression sur l'image du squelette binaire calculé par l'algorithme décrit dans ce chapitre. A la fin de cette phase, le réseau est considéré comme étant correct. L'image de la figure III.21 présente la surimpression du squelette binaire sur l'image initiale

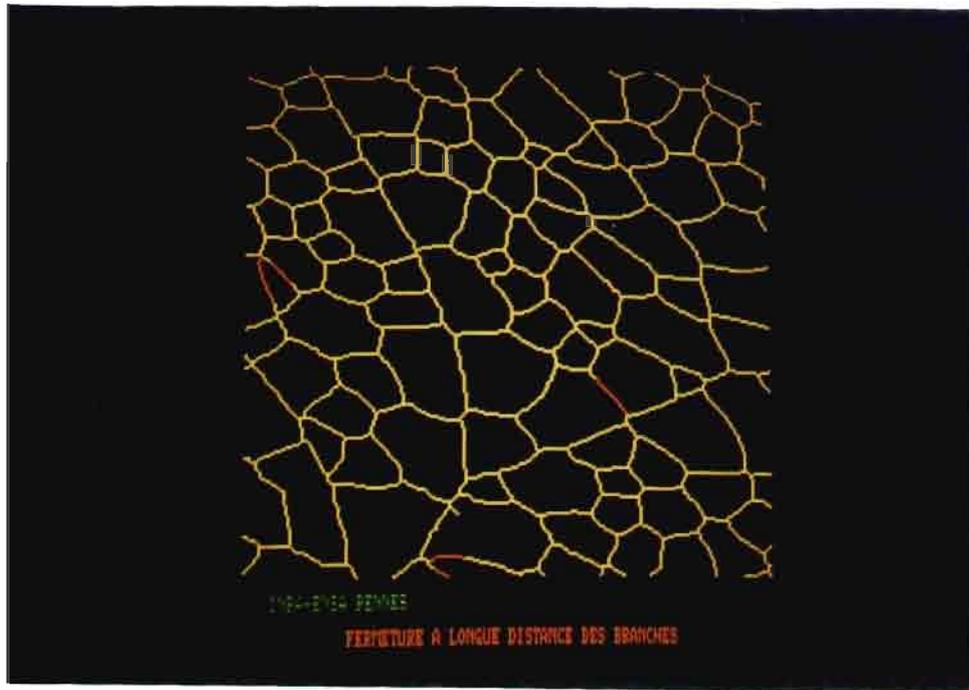


Figure III.20 : Fermeture à longue distance des branches du réseau binarisé. Les branches fermées sont en rouge.

en niveaux de gris.

III.5.2 Restitution de l'épaisseur du réseau

Afin de pouvoir effectuer des mesures sur le réseau ou son complémentaire, il faut restituer l'épaisseur initiale des branches du réseau ramenées à une épaisseur unité pour les besoins des traitements précédents. Pour cela, on effectue une ouverture morphologique de taille 2 sur l'image obtenue après la phase décrite dans la sous-section III.3.2. Cette opération a pour effet de ne garder que les grandes structures. On effectue par la suite une union avec le réseau validé³ dans l'étape décrite en III.5.1. L'image de la figure III.22 illustre l'opération de restitution de l'épaisseur.

³Le réseau validé est éventuellement préalablement dilaté selon les cas considérés

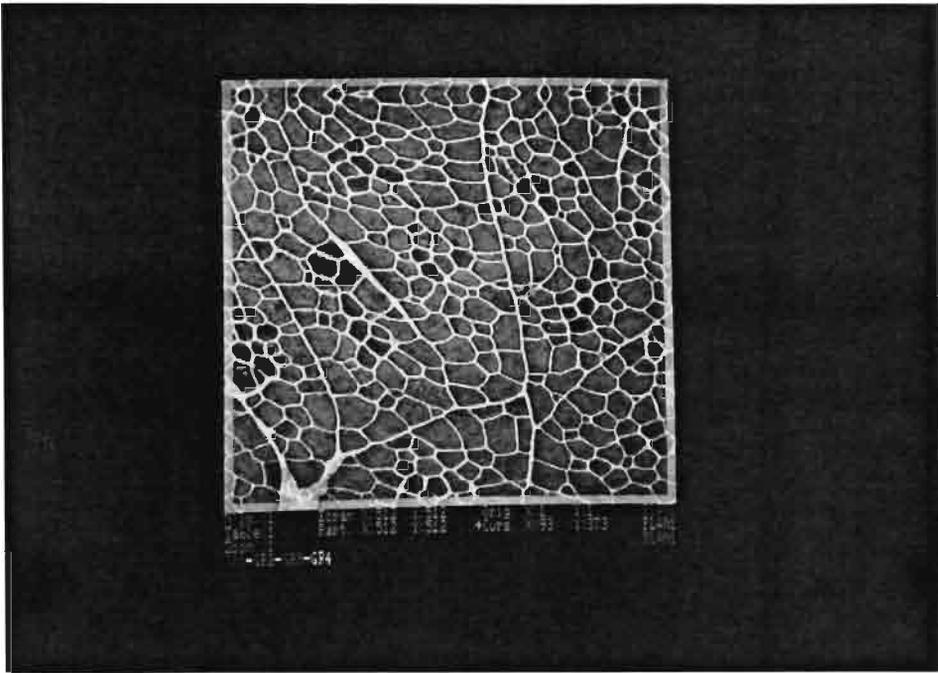


Figure III.21 : Correction interactive du réseau : surimpression du squelette binaire (en jaune) sur l'image initiale en niveaux de gris

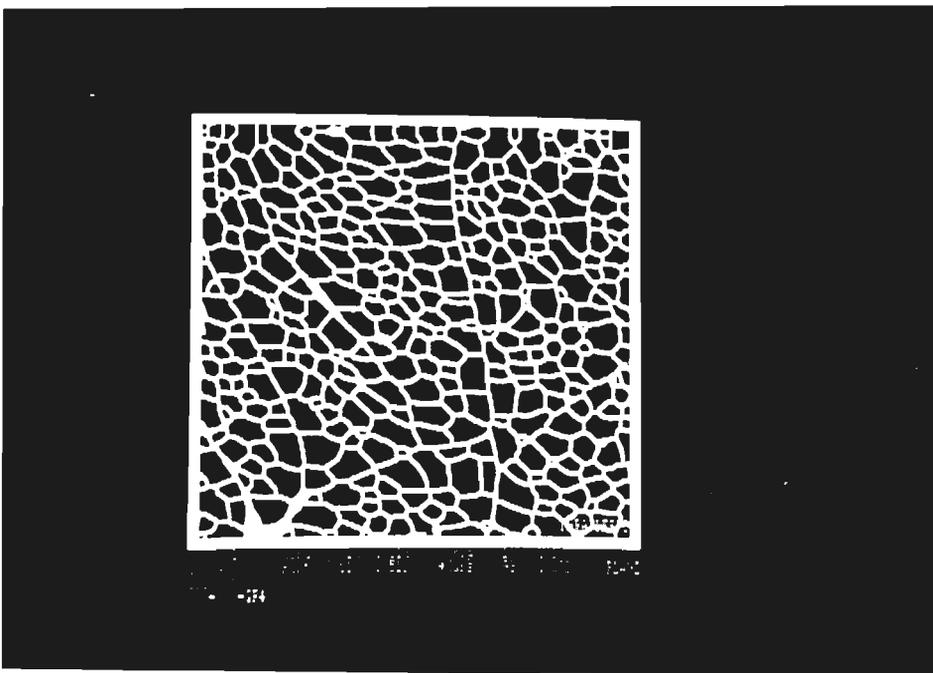


Figure III.22 : Restitution de l'épaisseur du réseau

Chapitre IV

Extraction d'informations structurelles sur les colorations à recalcr

Dans ce chapitre, nous ne cherchons pas à obtenir l'intégralité de l'information réseau disponible mais uniquement un sous-ensemble de celle-ci qui nous servira dans la partie 2 pour effectuer le suivi des fibres. Nous avons donné dans le chapitre 1 la définition de l'information réseau disponible dans les colorations à recalcr. Cette définition est voisine de celle des colorations de référence : l'information réseau est composée à la fois d'inter-fibres (comme dans la coloration de référence) et de transitions entre îlots ¹. L'idée que nous avons appliquée a été de nous rapprocher le mieux possible du cadre d'application de l'algorithme présenté dans le chapitre 3 grâce à un prétraitement de l'image.

Ce prétraitement de l'image sera réalisé par un détecteur de contours faisant apparaître aux endroits d'inter-fibres et aux frontières entre plages homogènes un saut d'amplitude (section IV.1). Puis, nous appliquons une partie de l'algorithme présenté dans le chapitre 3 (section IV.2).

IV.1 Prétraitement des colorations à recalcr

Afin de prétraiter les images de coloration de typage, nous avons implémenté deux opérateurs de détection de contours que nous avons déjà présenté de façon générale dans le chapitre de bibliographie (chapitre 2) : les opérateurs de Canny et de Deriche.

¹groupe de fibres plus ou moins bien séparées par de l'inter-fibres (cf chapitre 1)

IV.1.1 Opérateur de Canny

L'approche de Canny [Canny83], [Toumazet87] s'appuie sur un modèle de contour à détecter représenté par un saut d'amplitude en un point noyé dans un bruit Gaussien de moyenne nulle et de variance donnée .

Le détecteur de contours engendré par cette méthode atténue les effets du bruit par convolution de l'image avec un filtre passe-bas. Il est possible d'effectuer ce filtrage, puis de dériver l'image. Mais il est aussi possible de dériver directement le produit de convolution de l'image et du filtre passe-bas. Pour alléger les écritures, nous ne tiendrons pas compte des termes en $1/(2\pi)^2$ devant les courbes de Gauss.

Soit la gaussienne :

$$G(x, y) = \exp\left(-\frac{x^2 + y^2}{2\sigma^2}\right)$$

La dérivée de l'image I filtrée est :

$$\nabla f = \nabla(G \otimes I) = (f_x, f_y)$$

où f_x et f_y représentent les dérivées suivant x et y, il vient:

$$\begin{aligned} \nabla f &= ((G \otimes I)_x, (G \otimes I)_y) \\ &= ((G_x \otimes I), (G_y \otimes I)) \end{aligned}$$

Les dérivées partielles de la courbe de Gauss sont:

$$\begin{aligned} G_x(x, y) &= -\frac{x}{\sigma^2} \exp\left(-\frac{x^2 + y^2}{2\sigma^2}\right) \\ G_y(x, y) &= -\frac{y}{\sigma^2} \exp\left(-\frac{x^2 + y^2}{2\sigma^2}\right) \end{aligned}$$

Les filtres étant séparables, nous pouvons réaliser séparément les convolutions suivant x et y :

$$\begin{aligned} G_x(x, y) &= G_x(x) \otimes G(y) \\ G_y(x, y) &= G_y(y) \otimes G(x) \end{aligned}$$

d'où

$$\begin{aligned} f_x &= G_x(x) \otimes G(y) \otimes I \\ f_y &= G_y(y) \otimes G(x) \otimes I \end{aligned}$$

Algorithme

On convolue l'image $I(i,j)$ dans la direction horizontale avec l'opérateur de dérivation $G_x(x)$ de taille $2N+1$ (N dépendant de la valeur de σ) :

$$\begin{aligned} S(i, j) &= \sum_{l=-N}^{+N} I(i, j + l) \times G_x(l) \\ &\text{pour } i = 1, \dots, NLG \text{ et } j = 1, \dots, NCL \end{aligned}$$

On applique ensuite sur l'image tampon $S(i,j)$ le filtre lisseur $G(y)$ dans la direction verticale:

$$\begin{aligned} f_x(i, j) &= \sum_{k=-N}^{+N} S(i + k, j) \times G(k) \\ &\text{pour } j = 1, \dots, NCL \text{ et } i = 1, \dots, NLG \end{aligned}$$

Pour l'obtention de la dérivée en y , on applique le même traitement en échangeant $G_x(x)$, par $G_y(y)$ et $G(x)$ par $G(y)$ ainsi que i et j .

La direction et l'amplitude sont donnés par:

$$\begin{aligned} A(i, j) &= \sqrt{(f_x(i, j))^2 + (f_y(i, j))^2} \\ D(i, j) &= ATAN(f_y(i, j)/f_x(i, j)) \\ &\text{avec } i = 1, \dots, NLG \text{ et } j = 1, \dots, NCL \end{aligned}$$

On joue sur la sensibilité de l'opérateur au bruit en faisant varier la variable de la courbe de Gauss. Notons que plus ce paramètre est grand, plus les contours s'adoucissent et donc perdent en finesse dans les détails.

Conclusion

Cet opérateur permet une bonne détection des contours, maximisant le rapport signal / bruit. L'inconvénient majeur est qu'il voit son temps d'exécution augmenter avec la variable σ d'où un nouvel opérateur : le détecteur de contours de Deriche.

IV.1.2 Opérateur de Deriche

Le filtre de Canny est un filtre à réponse impulsionnelle finie. Deriche [Deriche87a] propose de le généraliser en un filtre à réponse impulsionnelle infinie par une définition récursive. Ce nouveau formalisme permet de dériver une implémentation récursive plus efficace que l'opérateur de Canny car le temps de calcul est constant quelle que soit la valeur de σ .

On se définit deux opérateurs:

- opérateur de dérivation : $f(n) = S n \exp^{-\alpha|n|}$
- opérateur de lissage : $h(n) = k(\alpha|n| + 1)/\exp^{-\alpha|n|}$

avec $\sum_0^\infty f(n) = -\sum_{-\infty}^0 f(n) = -1$ et $\sum_{-\infty}^\infty h(n) = 1$.

Algorithme

On convolue l'image $I(i,j)$ dans la direction horizontale avec l'opérateur de dérivation $f(n)$ et cela de manière récursive:

$$Y^+(i, j) = I(i, j - 1) - b_1 Y^+(i, j - 1) - b_2 Y^+(i, j - 2)$$

pour $i = 1, \dots, NLG$ et $j = 1, \dots, NCL$

$$Y^-(i, j) = I(i, j + 1) - b_1 Y^-(i, j + 1) - b_2 Y^-(i, j + 2)$$

pour $i = NLG, \dots, 1$ et $j = NCL, \dots, 1$

$$S(i, j) = a (Y^+(i, j) - Y^-(i, j))$$

pour $i = 1, \dots, NLG$ et $j = 1, \dots, NCL$

On applique ensuite sur l'image tampon $S(i,j)$ le filtre lisseur $h(n)$ dans la direction verticale:

$$F_x^+(i,j) = a_0S(i,j) + a_1S(i-1,j) - b_1F_x^+(i-1,j) - b_2F_x^+(i-2,j)$$

pour $j = 1, \dots, NCL$ et $i = 1, \dots, NLG$

$$F_x^-(i,j) = a_2S(i+1,j) + a_3S(i+2,j) - b_2F_x^-(i+1,j) - b_3F_x^-(i+2,j)$$

pour $j = NCL, \dots, 1$ et $i = NLG, \dots, 1$

$$F_x(i,j) = F_x^-(i,j) + F_x^+(i,j)$$

pour $j = 1, \dots, NCL$ et $i = 1, \dots, NLG$

Pour l'obtention du gradient en y, il suffit d'échanger $h(n)$ et $f(n)$ et d'appliquer le même procédé.

A partir de $F_x(i,j)$ et $F_y(i,j)$, on en déduit l'amplitude et la direction du gradient:

$$A(i,j) = \sqrt{(F_x(i,j))^2 + (F_y(i,j))^2}$$

$$D(i,j) = ATAN(F_y(i,j)/F_x(i,j))$$

avec $i = 1, \dots, NLG$ et $j = 1, \dots, NCL$

Les coefficients sont donnés par:

$$S = -(1 - e^{-\alpha})^2/e^{-\alpha}$$

$$a = Se^{-\alpha}$$

$$k = (1 - e^{-\alpha})^2/(1 + 2\alpha e^{-\alpha} - e^{-2\alpha})$$

$$a_0 = k$$

$$a_1 = k(\alpha - 1)e^{-\alpha}$$

$$a_2 = a_1 - kb_1$$

$$a_3 = -kb_2$$

$$b_1 = -2e^{-\alpha}$$

$$b_2 = e^{-2\alpha}$$

a, k et S étant des facteurs de normalisation.

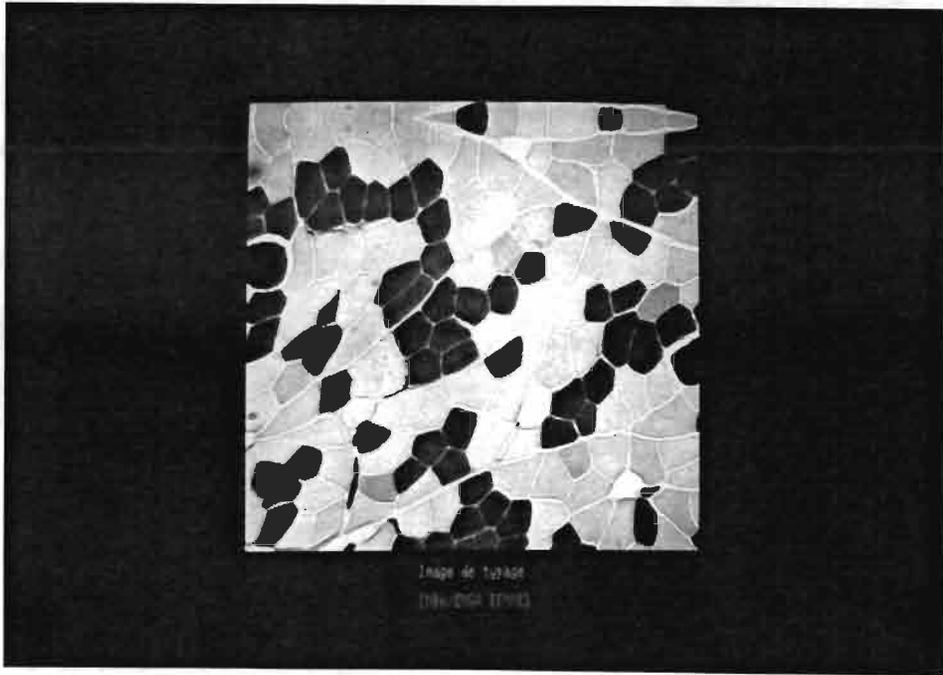


Figure IV.1 : Image à recaler

Remarque: Contrairement à Canny, plus α est grand, plus on obtient une détection fine des objets. Deux exemples d'application du filtre de Deriche à l'image de la figure IV.1 sont présentés dans les figures IV.2 et IV.3.

Conclusion

Nous porterons notre choix sur cet opérateur dont le temps d'exécution, indépendant de α , est plus rapide que celui proposé par Canny.

Choix de α : Pour les images de typage (ATP-asiq), nous fixons α à 1 (voir image IV.3) et pour les images paramètres (Glycogène), α est fixé à 0,8 (Cette coloration étant plus bruitée, on désire un effet de lissage plus important).

IV.1.3 Améliorations

Ces deux opérateurs ont tout d'abord été implémentés en calculs flottants, or étant donné la lenteur des calculs, nous avons réalisé une approximation entière des coefficients.

Chaque coefficient s'est vu multiplié par une constante E et stockée dans un entier de type LONG.

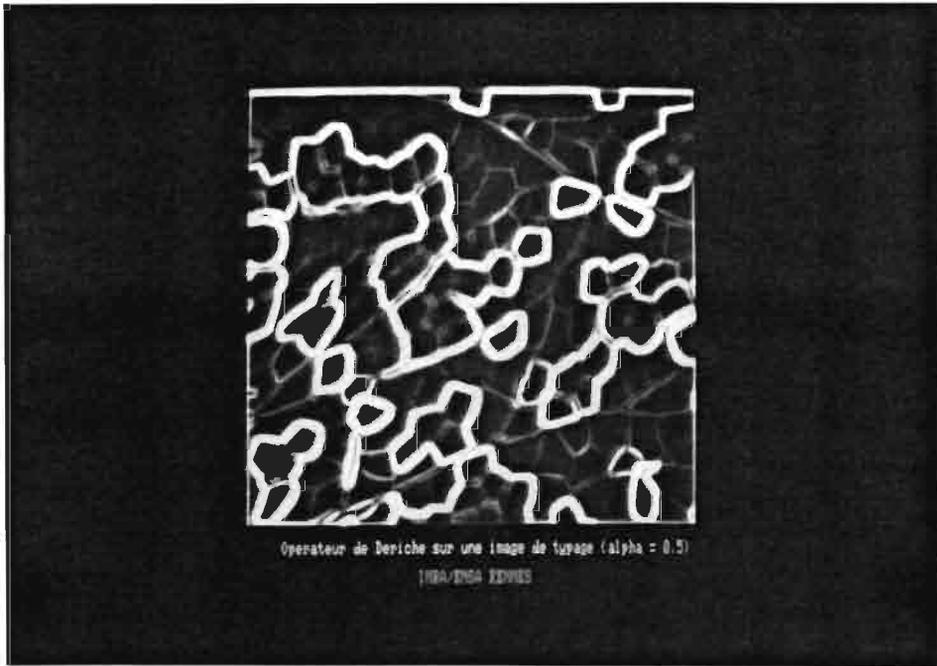


Figure IV.2 : Opérateur de Deriche sur une image à recaler ($\alpha = 0,5$)

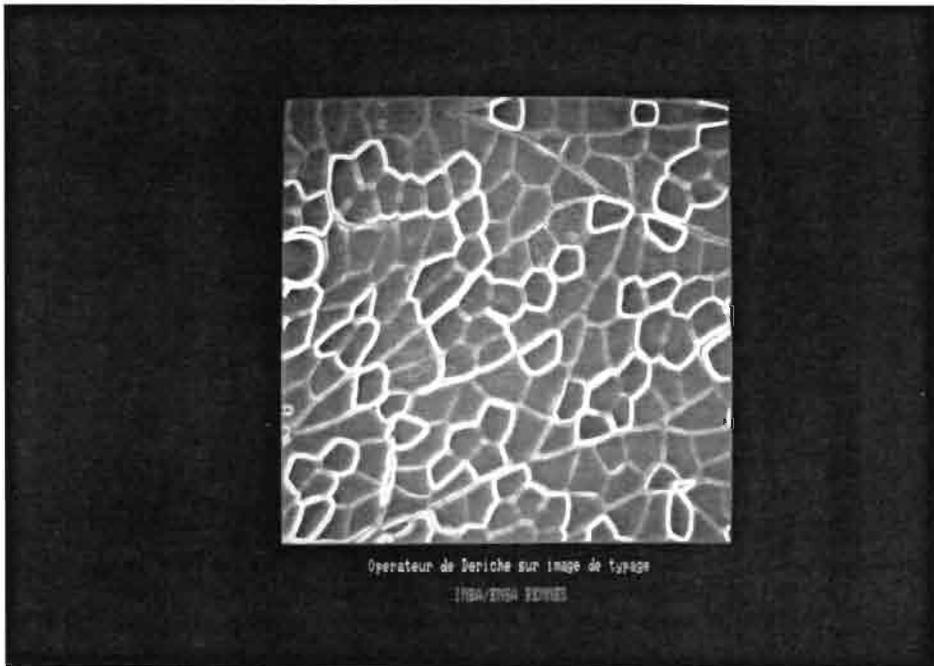


Figure IV.3 : Opérateur de Deriche sur une image à recaler ($\alpha = 1$)

Le gain réalisé s'est traduit par une exécution 10 fois plus rapide pour Deriche.

Temps de calculs en arithmétique entière sur Sun 3/260 :

- Opérateur de Canny :

	Temps en min.sec	Nombre de coefficients
$\sigma = 2$	1.19	5
$\sigma = 3$	1.36	7
$\sigma = 4$	1.56	9
$\sigma = 5$	2.10	11

- Opérateur de Deriche :

le temps de calcul moyen est de 54 secondes (quelle que soit la valeur de α).

IV.2 Extraction de l'information réseau disponible

Si l'on considère l'image des amplitudes $A(i, j)$ calculée par l'opérateur de Deriche, on observe deux types de lignes de contours (cf figure IV.4) :

- **des lignes simples** : correspondent aux transitions entre îlots
- **des lignes doubles** : correspondent aux deux transitions détectées lorsque l'on passe sur une branche d'inter-fibres

Les lignes simples représentent de l'information structurale directement exploitable dans la suite des traitements. Par contre, les lignes doubles canalisent les branches de réseau inter-fibres que nous voulons extraire. Il est donc nécessaire d'effectuer un traitement qui transforme ces lignes doubles en lignes simples. Nous avons pensé à appliquer à l'image des amplitudes du gradient une fermeture morphologique qui réalise l'opération désirée, c'est à dire :

- l'obtention d'un contour unique aux endroits d'inter-fibres
- un lissage de l'image des amplitudes en écrêtant les pics (de taille inférieure à l'élément structurant employé) assimilés à un bruit de fond.

Suite à ce traitement, nous appliquons l'algorithme de binarisation présenté dans le chapitre 3. L'algorithme complet est alors :

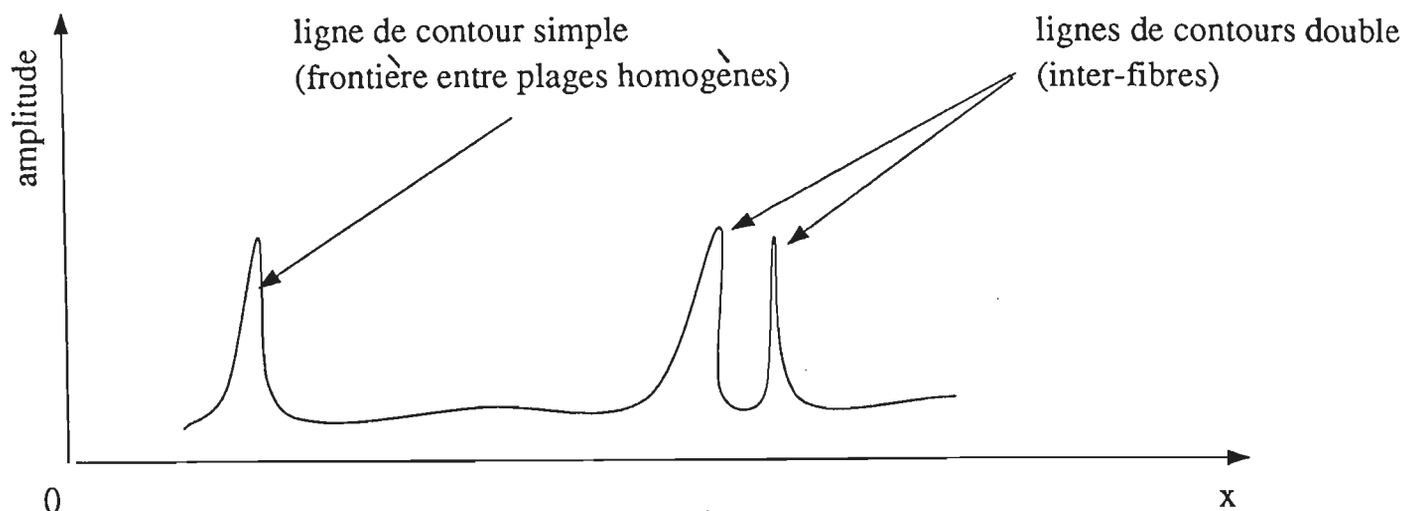


Figure IV.4 : Les deux types de lignes de contours rencontrés dans l'image des amplitudes calculée par l'opérateur de Deriche

- (1) Calcul du gradient de l'image brute avec l'opérateur de Deriche (voir figures IV.1 et IV.3).
- (2) Fermeture morphologique de l'image du gradient par un élément structurant carré de taille 2 (voir figure IV.5).
- (3) Amélioration du contraste global présentée dans la section III.2 (voir figure IV.6).
- (4) Binarisation automatique présentée dans la section III.3 (voir figure IV.7).
- (5) Squelettisation par amincissement présentée dans la section III.4 (voir figure IV.8).
- (6) Ebarbulage : on supprime les branches de longueur inférieure à L pixels (L étant fixé empiriquement à 11).

L'image de la figure IV.9 illustre le type d'information structurelle extraite après l'étape d'ébarbulage.

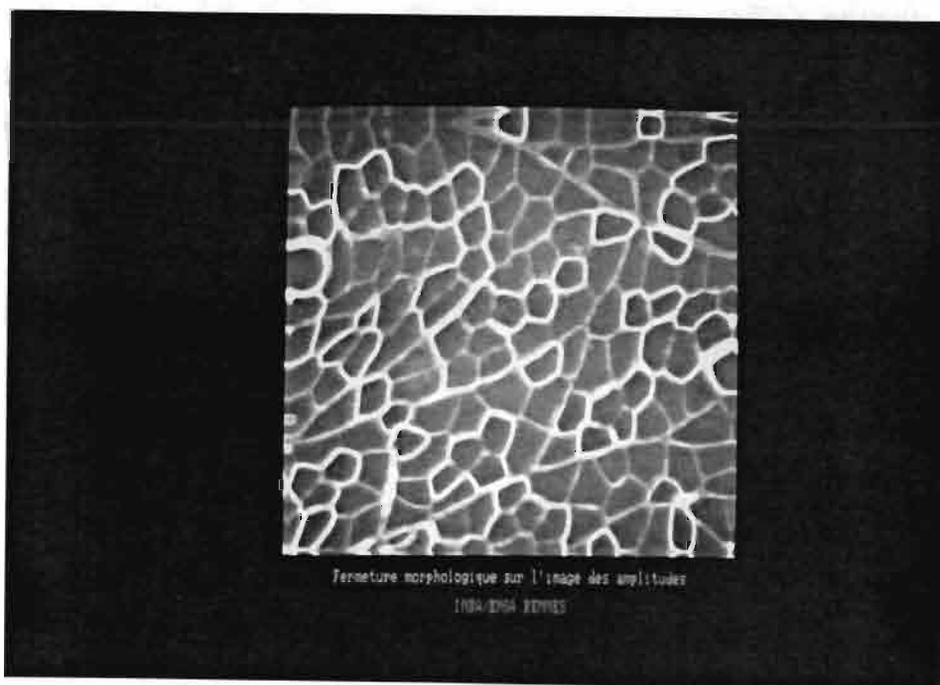


Figure IV.5 : Fermeture morphologique sur l'image gradient

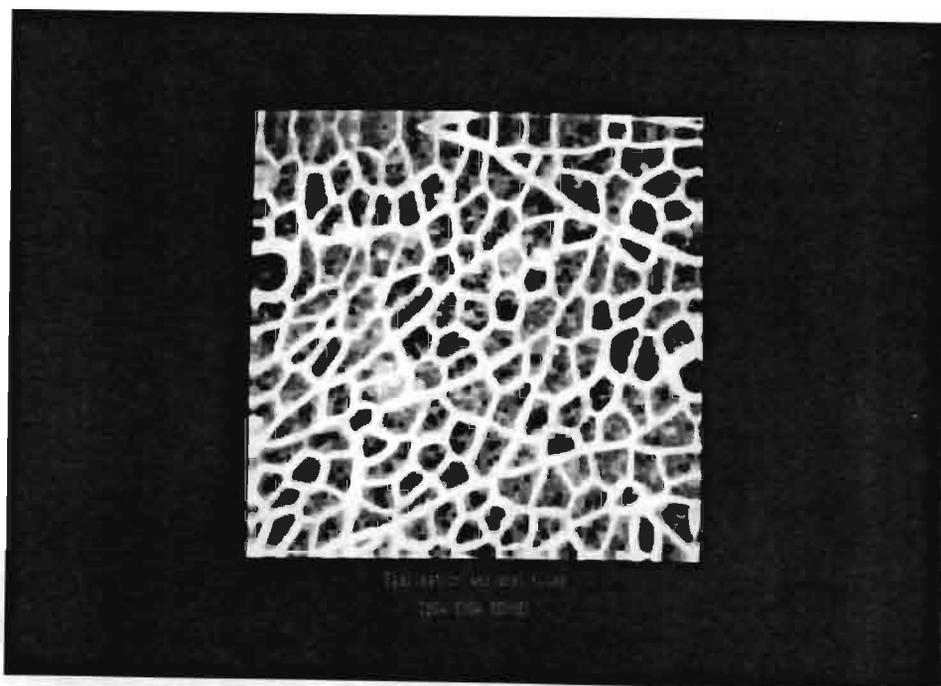


Figure IV.6 : Amélioration de contraste sur le gradient de l'image à recaler

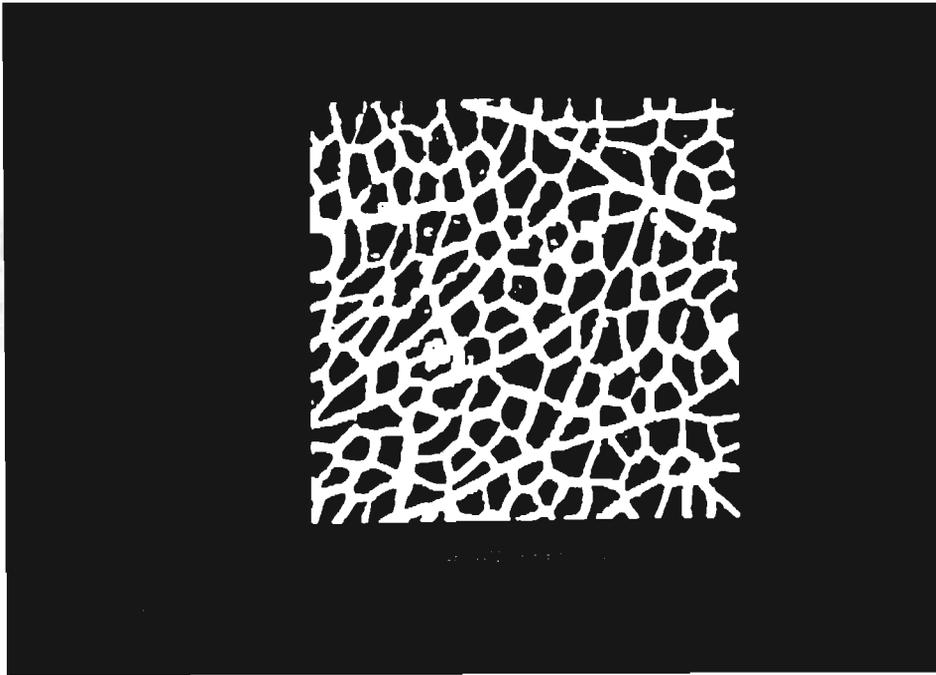


Figure IV.7 : Binarisation de l'image à recaler



Figure IV.8 : Squelettisation de l'image à recaler

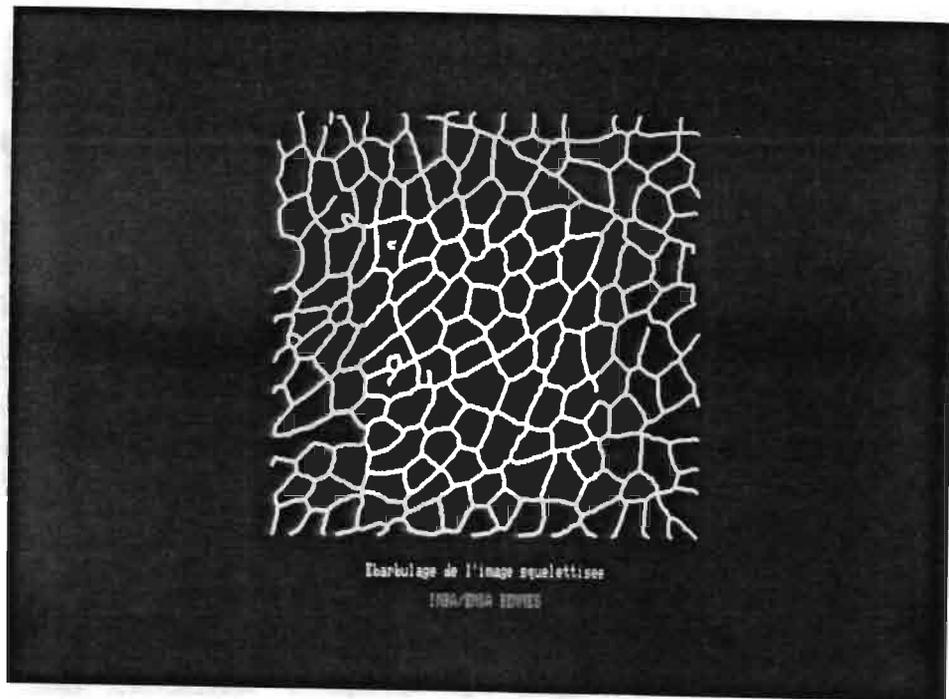


Figure IV.9 : Ebarbulage du squelette de l'image à recaler

IV.3 Conclusion

Dans l'algorithme présenté dans la section IV.2, nous n'appliquons pas les procédures de fermeture présentées dans le chapitre 3 pour deux raisons :

- (1) Comme nous l'avons dit au début de ce chapitre, nous ne cherchons pas à individualiser chaque fibre sur les colorations à recaler. Nous voulons seulement extraire de l'information structurale pour effectuer le suivi des fibres.
- (2) Les colorations à recaler ont été élaborées pour apporter une information fonctionnelle sur les fibres du muscle et non une information structurale. Par conséquent, les plages de coloration ne sont pas toujours homogènes². Après mise au point, nous nous sommes rendus compte que certaines branches sont détectées à la binarisation alors qu'elles ne sont pas présentes sur l'image en niveau de gris. Le réseau calculé est donc assez bruité et les procédures de fermeture ne peuvent pas s'appuyer sur une information suffisamment fiable pour donner un résultat intéressant.

²Il peut y avoir des tâches de coloration

Chapitre V

Conclusion sur les algorithmes d'extraction

Dans la section V.1, nous présentons une validation des algorithmes que nous avons développés. Puis, nous discutons des remises en cause possibles de cette approche dans la section V.2.

V.1 Validation des algorithmes d'extraction

Les algorithmes proposés dans les chapitres 3 et 4 respectent les critères que nous nous sommes fixés, à savoir :

- automatisation du calcul du seuil de binarisation
- simplicité de mise en oeuvre
- faible coût en temps calcul

La plupart des paramètres spatiaux figés que nous utilisons dans les algorithmes d'extraction ne sont pas critiques :

Dans l'individualisation des fibres sur la coloration de référence : Après l'étape de binarisation, le réseau inter-fibres est constitué de composantes connexes de grande taille (plusieurs milliers de pixels). En fixant le seuil d'élimination des petites composantes connexes à 50 pixels, nous sommes sûrs de ne pas éliminer des éléments du réseau inter-fibres.

Par la suite, la fermeture morphologique de taille 2 n'est utilisée que pour lisser les branches et pour éviter de mettre en oeuvre des algorithmes plus coûteux (fermeture

à courte et longue distances) pour fermer des branches dont les extrémités se touchent presque.

Après la squelettisation, on élimine les petites barbules de taille inférieures à 3 pixels. Ce seuil permet d'éliminer les barbules parasites créées par l'algorithme de squelettisation. Mais, il supprime très peu de vrais débuts de branche qui sont en général de taille supérieure (au moins 5 à 10 pixels).

La taille de la zone d'exploration de la procédure de fermeture à courte distance est fixée à 10×7 pixels. Comme les fibres ont un diamètre moyen supérieur à 30 pixels, on ne risque pas, en général, de générer de fausses cloisons si l'on part d'une barbule aberrante.

La longueur maximale des chemins (50 pixels) fixée dans la procédure de fermeture à longue distance permet de fermer une branche cassée compte tenu de la taille moyenne d'une fibre. Par contre, si la procédure part d'une barbule parasite non éliminée, elle risque de créer une fausse cloison. Mais nous n'avons constaté ce cas que très rarement.

Les résultats de la validation présentée plus bas confirment la robustesse de ces seuils.

Dans l'extraction de l'information structurale sur les images à recaler : La fermeture morphologique de taille 2 est utilisée afin d'obtenir un seul point multiple aux intersections entre branches fines par transformation des lignes de contours doubles en lignes de contour simple (voir figure IV.4). Ce seuil est robuste pour la classe de branches inter-fibres traitées.

Le seuil d'ébarbulage après la squelettisation est fixé à 11 pixels. Ce seuil est élevé et risque d'éliminer de vraies branches. Mais ce n'est pas critique vu que l'on ne cherche pas à obtenir l'intégralité de l'information réseau sur ce type de coloration.

Validation de l'algorithme d'individualisation des fibres L'algorithme présenté dans le chapitre 3 a fait l'objet d'une validation manuelle pour évaluer ses performances. Cette validation a été effectuée sur 13 colorations de références. Certaines de ces colorations ont été numérisées à deux niveaux de grossissements (4X; 6,3X) afin d'analyser l'influence de ce paramètre sur les performances des traitements informatiques. L'erreur d'extraction avant correction manuelle est exprimée en pourcentage de cloisons en trop ou manquantes par rapport au nombre total de cloisons :

	Moyenne	Ecart-type
pourcentage de cloisons en trop	1,05	1,14
pourcentage de cloisons manquantes	0,58	0,70

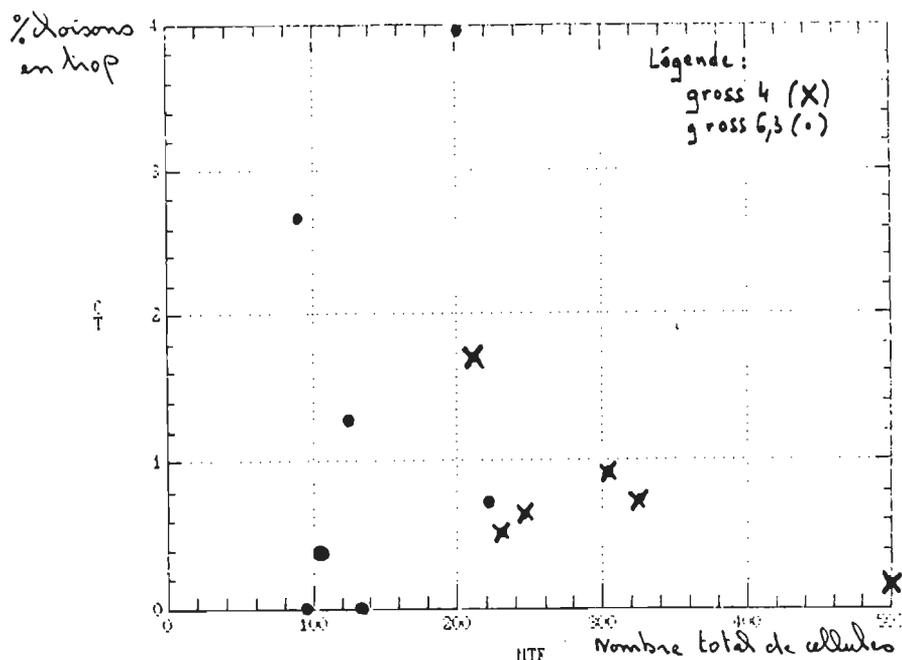


Figure V.1 : Cloisons en trop par rapport au nombre total de cellules

Le niveau de grossissement n'a pas d'influence notable sur les résultats, par contre plus le nombre de cellules dans le champ est élevé, plus le nombre de cloisons manquantes est grand (voir figure V.2).

Cette constatation n'a rien d'étonnant car plus il y a de cellules dans le champ, moins la trame du réseau est échantillonnée. Dans ce cas, l'étape d'élimination des particules de petite taille est sévère (le seuil fixé à 50 pixels est constant) et élimine beaucoup de morceaux de trames. Le nombre optimal (estimation visuelle) de cellules par champ se situe entre 200 et 300 pour avoir suffisamment de cellules tout en ayant une extraction satisfaisante du réseau (ie qui ne génère pas une phase de correction manuelle trop longue).

V.2 Discussion, remise en cause

Notre approche peut être revue à au moins deux niveaux :

- une révision mineure dans laquelle nous proposons la modification de certaines fonctions utilisées ne remettant pas en cause la structure générale de l'algorithme
- une révision majeure dans laquelle nous proposons une nouvelle approche remettant en cause la structure générale de l'algorithme

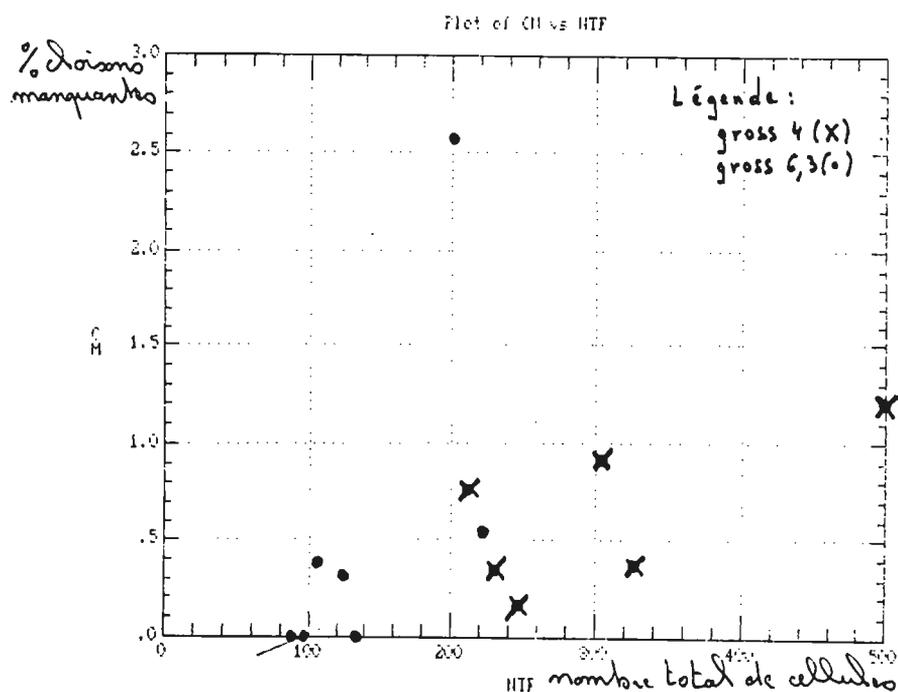


Figure V.2 : Cloisons manquantes par rapport au nombre total de cellules

V.2.1 Révision mineure

L'étape de squelettisation Le critère *coût de temps de calcul* pourrait être mieux respecté en implémentant l'algorithme de squelettisation séquentiel de Meyer [Meyer85] au lieu de l'algorithme d'amincissement itératif :

Cet algorithme est basé sur l'analyse du relief de la fonction distance (voir figure V.3) proposée par Rosenfeld [Rosenfeld66]. Cette fonction se calcule en deux passages sur l'image (un balayage vidéo suivi d'un balayage vidéo inverse) en considérant le 6-voisinage d'un pixel d en maille hexagonale.

Puis, on détecte en 3 passages sur l'image :

- (1) Les points crêtes.
- (2) Les points appartenant aux bassins versants des points crêtes.
- (3) Les points appartenant au squelette final : points crêtes ou points appartenant aux bassins versants des points crêtes respectant en plus des configurations d'altitude particulières testées sur les 12 plus proches voisins.

```

000000000000000000000000
0000000111111100000000
0000001111111100000000
0000011111111000000000
0000011111111110000000
0000001111111110000000
0000000000000000000000

```

image binaire

```

000000000000000000000000
0000000111111100000000
0000001222222100000000
0000012333332100000000
0000012222222111000000
0000001111111110000000
0000000000000000000000

```

fonction distance de l'image binaire

Figure V.3 : Calcul de la fonction distance

V.2.2 Révision majeure

Une première critique majeure peut être adressée à notre approche. Nous binarisons l'image avant de la squelettiser. Il serait plus astucieux d'essayer d'obtenir le squelette directement à partir de l'image en niveaux de gris évitant ainsi une étape intermédiaire qui réduit de manière brutale le volume d'information initiale. Il nous semble intéressant de poursuivre notre travail dans cette direction en intégrant plus complètement les méthodes développées par I. Leplumey [Leplumey86] et P. Lebellegard [Lebellegard87] (présentées dans les chapitres 2 et 3) afin de calculer le squelette du réseau directement à partir de l'image en niveaux de gris. Le seuil de contraste caractérisant les objets à détecter pourra être estimé par l'amplitude moyenne associée à la luminance choisie dans notre procédure de binarisation automatique.

Une alternative à l'approche Leplumey/Lebellegard serait de considérer la ligne de partage des eaux (watersheds) de l'image en niveaux de gris proposée par Friedlander [Friedlander87] que nous avons présentée sommairement dans le chapitre 2. Il serait également intéressant de tester d'autres algorithmes de croissance de régions (Monga, ...).

La deuxième critique que l'on peut opposer à notre approche est son manque d'homogénéité. Nous proposons en effet deux algorithmes d'individualisation pour

extraire des informations finalement assez comparables sur les deux types de colorations traitées. Ce choix est du au fait qu'au début de ce travail, nous ne pensions pas avoir besoin d'extraire l'information réseau sur les colorations à recalculer. Ce besoin s'est fait ressentir au moment de la mise au point de la procédure de mise en correspondance abordée dans la partie 2. Nous avons fait le choix d'aller jusqu'au bout de la réalisation de l'application (mise au point d'une interface homme/machine présentée dans la partie 3, réalisation d'une expérimentation en vraie grandeur présentée dans la partie 4) plutôt que d'homogénéiser la procédure d'extraction de réseau.

Deuxième Partie

Suivi des fibres

Dans cette partie, nous abordons le problème du suivi des fibres. Nous avons d'abord recherché un modèle de déformation permettant de recalibrer les images (chapitre 1).

Puis, nous avons mis au point une procédure de recherche automatique d'amers pour estimer les coefficients du modèle de déformation (chapitre 2).

Chapitre Premier

Recherche d'un modèle de déformation

I.1 Introduction

Dans la première partie de ce document, nous avons proposé un algorithme d'extraction du réseau inter-fibres présent sur la coloration de référence sous forme d'image binaire. A partir du complémentaire de cette image binaire nous pouvons donc calculer les composantes connexes qui correspondent aux fibres. Les objectifs que nous nous fixons dans la recherche d'un modèle de déformation est de réussir à situer le barycentre de chaque fibre, calculé sur la coloration de référence, à l'intérieur de la fibre sur la coloration à recaler (voir figure I.1). Ce recalage est suffisant car nous avons juste besoin d'évaluer la luminosité moyenne autour du barycentre.

Au démarrage de cette étude, nous pensions que le seul problème de déformation à résoudre pouvait venir d'un mauvais positionnement de la coloration à recaler au moment de la numérisation. Nous avons donc cherché à corriger une déformation géométrique de type translation-rotation globale sur l'image. Nous présentons le modèle mis en oeuvre dans la section I.2. Les résultats obtenus ne se sont pas avérés suffisamment bons. Nous avons alors identifié différents types de distorsions locales (section I.2) qui nous ont amené à définir un modèle de déformation mieux adapté : Nous présentons la mise en oeuvre d'un modèle de transformation polynômiale dans la section I.3.

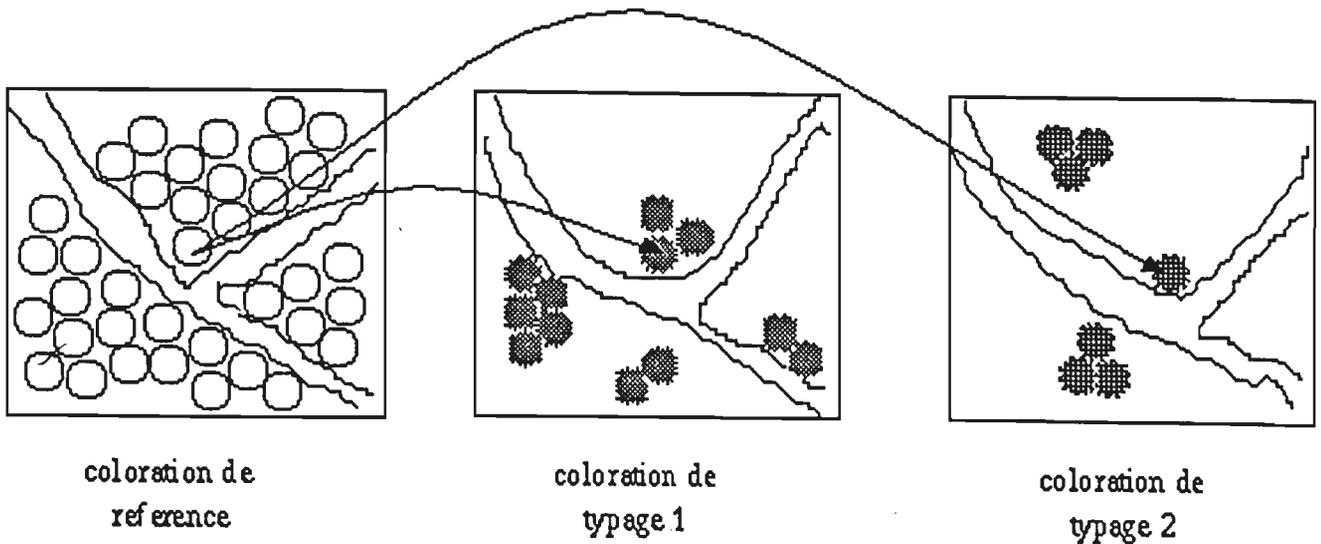


Figure I.1 : Mise en correspondance des paramètres décrivant une même fibre sur les différentes coupes

I.2 Mise en oeuvre d'une transformation translation-rotation

I.2.1 Introduction

Nous avons d'abord supposé que le modèle de passage d'une image de référence à une image X repose sur une transformation géométrique globale composée d'une translation et d'une rotation. On supposera que l'on dispose d'un ensemble de points amers observés à la fois sur l'image de référence et sur l'image X. A chaque point de référence correspond un point sur X (appelé point homologue). Déterminer la transformation géométrique consiste à estimer la transformation en rotation-translation qui fait passer d'un jeu de points à l'autre. Pour cela nous allons définir notre critère d'optimisation en nous inspirant de [Camillerapp76] : nous décrivons le calcul du vecteur de translation dans la sous-section I.2.2 et le calcul de l'angle de la rotation dans la sous-section I.2.3. Puis nous présentons le résultat d'un test de validation effectué sur un échantillon de coupes sériées dans la sous-section I.2.4.

I.2.2 Calcul du vecteur de translation

A un point référence de coordonnées (X_{r_i}, Y_{r_i}) , on associe son homologue (X_{h_i}, Y_{h_i}) et le point obtenu par la transformation (X'_{h_i}, Y'_{h_i}) . La transformation en rotation-translation s'exprime de la manière suivante :

$$\begin{aligned} X'_{h_i} &= \cos(\theta)(X_{r_i} - X_{c_r}) - \sin(\theta)(Y_{r_i} - Y_{c_r}) + X'_{c_r} \\ Y'_{h_i} &= \sin(\theta)(X_{r_i} - X_{c_r}) + \cos(\theta)(Y_{r_i} - Y_{c_r}) + Y'_{c_r} \end{aligned}$$

avec (X_{c_r}, Y_{c_r}) point centre de la rotation dans l'image référence et (X'_{c_r}, Y'_{c_r}) son point supposé homologue sur l'image X. On définira l'écart au point i par:

$$d_i^2 = (X_{h_i} - X'_{h_i})^2 + (Y_{h_i} - Y'_{h_i})^2$$

et pour l'ensemble des points amers, on minimisera l'écart global :

$$D = \sum_i d_i^2$$

où i décrit l'ensemble des points amers. Nous recherchons $X'_{c_r}, Y'_{c_r}, \theta$ tels que D soit minimum. Exprimons l'écart d_i^2 en remplaçant (X'_{h_i}, Y'_{h_i}) par son expression en $(X'_{c_r}, Y'_{c_r}, \theta)$:

$$\begin{aligned} d_i^2 &= [(X_{h_i} - X'_{c_r}) - (X_{r_i} - X_{c_r})\cos(\theta) + (Y_{r_i} - Y_{c_r})\sin(\theta)]^2 \\ &\quad + [(Y_{h_i} - Y'_{c_r}) - (X_{r_i} - X_{c_r})\sin(\theta) - (Y_{r_i} - Y_{c_r})\cos(\theta)]^2 \end{aligned}$$

Ecrire que D est minimum revient à annuler les trois dérivées par rapport à $X'_{c_r}, Y'_{c_r}, \theta$:

$$\begin{aligned} \frac{1}{2} \frac{\partial D}{\partial X'_{c_r}} &= - \sum_i [(X_{h_i} - X'_{c_r}) - (X_{r_i} - X_{c_r})\cos(\theta) + (Y_{r_i} - Y_{c_r})\sin(\theta)] = 0 \\ \frac{1}{2} \frac{\partial D}{\partial Y'_{c_r}} &= - \sum_i [(Y_{h_i} - Y'_{c_r}) - (X_{r_i} - X_{c_r})\sin(\theta) - (Y_{r_i} - Y_{c_r})\cos(\theta)] = 0 \\ \frac{1}{2} \frac{\partial D}{\partial \theta} &= 0 \end{aligned}$$

Des deux premières équations, on tire :

$$\begin{aligned}
X'_{c_r} &= \frac{1}{n} \left[\sum_i X_{h_i} - \sum_i (X_{r_i} - X_{c_r}) \cos(\theta) + \sum_i (Y_{r_i} - Y_{c_r}) \sin(\theta) \right] \\
Y'_{c_r} &= \frac{1}{n} \left[\sum_i Y_{h_i} - \sum_i (X_{r_i} - X_{c_r}) \sin(\theta) - \sum_i (Y_{r_i} - Y_{c_r}) \cos(\theta) \right]
\end{aligned}$$

avec n le nombre de points amers. Si l'on choisit :

$$\begin{aligned}
X_{c_r} &= \frac{1}{n} \sum_i X_{r_i} \\
Y_{c_r} &= \frac{1}{n} \sum_i Y_{r_i}
\end{aligned}$$

alors on obtient

$$\begin{aligned}
X'_{c_r} &= \frac{1}{n} \sum_i X_{h_i} \\
Y'_{c_r} &= \frac{1}{n} \sum_i Y_{h_i}
\end{aligned}$$

et ceci indépendamment de θ . Ce résultat peut s'interpréter en disant que l'on cherche d'abord à faire coïncider les centres de gravité des points amers par une translation puis que l'on effectue la meilleure rotation autour de ce centre de gravité.

1.2.3 Calcul de l'angle de la rotation

Evaluons maintenant l'angle θ de la rotation. Pour calculer $\frac{\partial D}{\partial \theta}$, on décompose d afin de faire apparaître les termes dépendant de θ :

$$\begin{aligned}
d_i^2 &= (X_{h_i} - X'_{c_r})^2 + (X_{r_i} - X_{c_r})^2 \cos^2(\theta) + (Y_{r_i} - Y_{c_r})^2 \sin^2(\theta) \\
&\quad + 2(X_{h_i} - X'_{c_r})[-(X_{r_i} - X_{c_r}) \cos(\theta) + (Y_{r_i} - Y_{c_r}) \sin(\theta)] \\
&\quad - 2(X_{r_i} - X_{c_r})(Y_{r_i} - Y_{c_r}) \sin(\theta) \cos(\theta) \\
&\quad + (Y_{h_i} - Y'_{c_r})^2 + (X_{r_i} - X_{c_r})^2 \sin^2(\theta) + (Y_{r_i} - Y_{c_r})^2 \cos^2(\theta) \\
&\quad + 2(Y_{h_i} - Y'_{c_r})[-(X_{r_i} - X_{c_r}) \sin(\theta) - (Y_{r_i} - Y_{c_r}) \cos(\theta)] \\
&\quad + 2(X_{r_i} - X_{c_r})(Y_{r_i} - Y_{c_r}) \sin(\theta) \cos(\theta)
\end{aligned}$$

en regroupant les termes en $\cos^2(\theta)$ et $\sin^2(\theta)$, on obtient :

$$d_i^2 = 2(X_{hi} - X'_{cr})[-(X_{ri} - X_{cr})\cos(\theta) + (Y_{ri} - Y_{cr})\sin(\theta)] \\ - 2(Y_{hi} - Y'_{cr})[(X_{ri} - X_{cr})\sin(\theta) + (Y_{ri} - Y_{cr})\cos(\theta)] \\ + C$$

où C est un ensemble de termes indépendants de θ , alors

$$\frac{1}{2} \frac{\partial d_i^2}{\partial \theta} = (X_{hi} - X'_{cr})[(X_{ri} - X_{cr})\sin(\theta) + (Y_{ri} - Y_{cr})\cos(\theta)] \\ - (Y_{hi} - Y'_{cr})[(X_{ri} - X_{cr})\cos(\theta) - (Y_{ri} - Y_{cr})\sin(\theta)]$$

et donc comme :

$$\frac{1}{2} \frac{\partial D}{\partial \theta} = \frac{1}{2} \sum_i \frac{\partial d_i^2}{\partial \theta}$$

on obtient :

$$\frac{1}{2} \frac{\partial D}{\partial \theta} = \sum_i (X_{hi} - X'_{cr})[(X_{ri} - X_{cr})\sin(\theta) + (Y_{ri} - Y_{cr})\cos(\theta)] \\ - \sum_i (Y_{hi} - Y'_{cr})[(X_{ri} - X_{cr})\cos(\theta) - (Y_{ri} - Y_{cr})\sin(\theta)] \\ = 0$$

On notera :

$$\frac{1}{n} \sum_i (X_{hi} - X'_{cr})(X_{ri} - X_{cr}) = \text{cov}(X_r, X_h) \\ \frac{1}{n} \sum_i (X_{hi} - X'_{cr})(Y_{ri} - Y_{cr}) = \text{cov}(X_h, Y_r) \\ \frac{1}{n} \sum_i (Y_{hi} - Y'_{cr})(X_{ri} - X_{cr}) = \text{cov}(X_r, Y_h) \\ \frac{1}{n} \sum_i (Y_{hi} - Y'_{cr})(Y_{ri} - Y_{cr}) = \text{cov}(Y_h, Y_r)$$

L'équation se réécrit avec une interprétation de covariance :

$$\text{cov}(X_h, X_r)\sin(\theta) + \text{cov}(X_h, Y_r)\cos(\theta) \\ - \text{cov}(X_r, Y_h)\cos(\theta) + \text{cov}(Y_h, Y_r)\sin(\theta) = 0$$

Finalement :

$$tg(\theta) = \frac{cov(X_r, Y_h) - cov(X_h, Y_r)}{cov(X_h, X_r) + cov(Y_h, Y_r)}$$

I.2.4 Résultats de la validation

Nous avons testé ce modèle sur un échantillon de 45 images de typage. Dans ce test, nous avons considéré des types de colorations différents (ATP 4,10; ATP 4,35 et ATP 10,4) à des niveaux de grossissement différents (X4 et X6,3) afin d'analyser l'influence de ces deux paramètres sur la qualité des résultats obtenus.

L'étape de recalage nécessite en moyenne 3 minutes, temps nécessaire pour positionner plusieurs points amers ¹ sur les couples d'images à recalcer. Le temps de calcul des paramètres de la transformation est négligeable. L'erreur de recalage est exprimé en nombre de cellules mal recalées par rapport au nombre total de cellules. Une cellule est dite mal recalée lorsque son barycentre calculé sur l'image de référence et recalé par le modèle translation-rotation sort de la cellule sur l'image à recalcer. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant par grossissement (X4; X6,3) et par type de coloration :

Grossissement	Coloration	Moyenne	Ecart-type	Nombre d'images
X4	ATP 4,10	7,1%	4,3	7
	ATP 4,35	6,1%	6,1	7
	ATP 10,4	3,1%	4,0	7
X6,3	ATP 4,10	5,0%	4,3	8
	ATP 4,35	6,1%	1,0	8
	ATP 10,4	1,6%	1,8	8
X6,3 + X4	ATP 4,10	6,0%	4,3	15
	ATP 4,35	3,8%	4,7	15
	ATP 10,4	2,3%	3,0	15

Toutes colorations et grossissements confondus, le pourcentage de cellules mal recalées par coloration est de 4% avec un coefficient de variation de 110%. On constate que l'erreur est plus élevée au grossissement 4 (5,4%) qu'au grossissement 6,3 (2,8%). Ceci est dû au fait qu'au grossissement 6,3 les cellules sont en moyenne plus grosses qu'au grossissement 4, le risque d'erreur est donc plus faible. On note également que l'erreur est variable selon le type de coloration considéré. Par ordre, l'erreur est la plus élevée pour la coloration ATP 4,10 (7,1% et 5% aux grossissements X4 et X6,3) puis vient la coloration ATP 4,35 (6,1%; 1,7%) et la coloration ATP 10,4 (3,1%; 1,6%). Nous pensons que cette variabilité peut être le reflet d'un effet coloration

¹ 4 ou 5 points suffisent en général

(modification plus ou moins importante de la forme de la cellule en fonction de la coloration). Ce phénomène génère des distorsions locales dans le réseau inter-fibres.

Distorsions locales : D'autres facteurs sont source de déformation locale. Nous nous sommes aperçus que des cellules adipeuses s'insèrent parfois entre les fibres d'une coloration alors que l'on ne les retrouve plus sur les colorations suivantes du même jeu. D'autre part, certaines colorations subissent parfois localement dans une région de l'image une déformation due au microtome à congélation.

Enfin, en général, dans un même jeu de coupes les erreurs de recalage ne concernent pas les mêmes cellules pour les différentes coloration traitées. L'erreur totale de recalage est donc additive dans le pire des cas (en moyenne : 4% x nombre de colorations étudiées).

En conclusion, la combinaison de ces trois effets (effet "coloration", effet "cellules adipeuses" et effet "microtome") produit des distorsions locales que notre modèle de déformation translation-rotation ne peut pas prendre en compte. Nous avons donc été amené à proposer un autre modèle de déformation : le modèle polynômial.

I.3 Mise en oeuvre d'une transformation polynômiale

I.3.1 Introduction

Nous proposons dans cette section d'appliquer à nos images un modèle de déformation polynômiale qui prend mieux en compte les distorsions locales que le modèle translation-rotation. Ce type de modèle est utilisé pour effectuer des corrections géométriques sur images de télédétection [Mather87]. Nous présentons dans la sous-section I.3.2 l'implémentation que nous avons réalisée et dans la sous-section I.3.3 nous discutons de l'adéquation de ce modèle à notre application.

I.3.2 Calcul des coefficients du modèle polynômial

Nous proposons d'appliquer deux transformations polynômiales indépendantes en x et en y afin de laisser plus de liberté au modèle : Soit (x_i, y_i) un point d'amer sur l'image de référence et (u_i, v_i) ses coordonnées dans l'image à recalcr. On a :

$$u_i = f(x_i, y_i)$$

$$v_i = g(x_i, y_i)$$

avec f et g deux fonctions polynômiales de degré n ($n \geq 1$). Par exemple, pour $n = 2$, on aura :

$$u_i = a_1 + a_2(x_i - x_c) + a_3(y_i - y_c) + a_4(x_i - x_c)(y_i - y_c) + a_5(x_i - x_c)^2 + a_6(y_i - y_c)^2$$

avec

$$x_c = \frac{(\sum_{i=1}^N x_i)}{N}$$

$$y_c = \frac{(\sum_{i=1}^N y_i)}{N}$$

N étant le nombre de points d'amer.

Pour déterminer la valeur des coefficients a_k et b_k , on effectue le changement de variables suivant :

$$X_{i1} = 1$$

$$X_{i2} = (x_i - x_c)$$

$$X_{i3} = (y_i - y_c)$$

$$X_{i4} = (x_i - x_c)(y_i - y_c)$$

$$X_{i5} = (x_i - x_c)^2$$

$$X_{i6} = (y_i - y_c)^2$$

pour un polynôme de degré 3, on obtient les changements de variables:

$$X_{i7} = (x_i - x_c)(y_i - y_c)^2$$

$$X_{i8} = (x_i - x_c)^2(y_i - y_c)$$

$$X_{i9} = (x_i - x_c)^3$$

$$X_{i10} = (y_i - y_c)^3$$

A partir de ces changements de variable, on obtient le nouveau système d'équations:

$$u_i = \sum_{k=1}^P a_k X_{ik}$$

$$v_i = \sum_{k=1}^P b_k X_{ik}$$

$$\text{avec } 1 \leq i \leq N, P = \frac{(n+1)(n+2)}{2}$$

et n degré du polynôme

Nous recherchons les valeurs des coefficients a_k, b_k qui minimisent les écarts entre le modèle et les observations, soient les fonctions S_1 et S_2 suivantes :

$$S_1 = \sum_{i=1}^N [u_i - \sum_{k=1}^P a_k X_{ik}]^2$$

$$S_2 = \sum_{i=1}^N [v_i - \sum_{k=1}^P b_k X_{ik}]^2$$

Pour cela, il suffit d'annuler les dérivées premières de S_1 et S_2 par rapport à a_k, b_k :

$$\frac{\partial S_1}{\partial a_k} = 0 \quad \forall k = 1, \dots, P$$

$$\frac{\partial S_2}{\partial b_k} = 0 \quad \forall k = 1, \dots, P \quad (6)$$

On développe $\frac{\partial S_1}{\partial a_k} = 0$:

$$\frac{\partial S_1}{\partial a_k} = \sum_{i=1}^N 2[u_i - \sum_{k=1}^P a_k X_{ik}](-X_{ik}) = 0$$

ce qui se réécrit :

$$\sum_{i=1}^N X_{ik} u_i = \sum_{i=1}^N (\sum_{k=1}^P a_k X_{ik})(X_{ik})$$

$$= a_1 \sum_{i=1}^N X_{i1} X_{ik} + \dots + a_P \sum_{i=1}^N X_{iP} X_{ik}$$

Soit sous forme matricielle :

$$\begin{pmatrix} \sum_i X_{i1} X_{i1} & \dots & \sum_i X_{i1} X_{iP} \\ \sum_i X_{i2} X_{i1} & \dots & \sum_i X_{i2} X_{iP} \\ \vdots & & \vdots \\ \sum_i X_{iP} X_{i1} & \dots & \sum_i X_{iP} X_{iP} \end{pmatrix} * \begin{pmatrix} a_1 \\ a_2 \\ \vdots \\ a_P \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sum X_{i1} u_i \\ \sum X_{i2} u_i \\ \vdots \\ \sum X_{iP} u_i \end{pmatrix}$$

ou encore de manière condensée :

$$M_1 \cdot Y_1 = R_1$$

même chose avec b_k :

$$M_2.Y_2 = R_2$$

On est donc amené à résoudre les systèmes:

$$M_1.Y_1 = R_1$$

$$M_2.Y_2 = R_2$$

Pour ce faire, on emploie la méthode des pivots [Sibony82] pour résoudre ces 2 systèmes de P équations à P inconnus.

Principe :

On transforme les systèmes

$$M.Y = R$$

en systèmes triangulaires supérieurs

$$\begin{aligned} m_{11}a_1 + m_{12}a_2 + \dots + m_{1P}a_P &= r_1 \\ \dots &= \dots \\ m_{(P-1)(P-1)}a_{P-1} + m_{(P-1)P}a_P &= r_{P-1} \\ m_{PP}a_P &= r_P \end{aligned}$$

l'algorithme s'écrit :

$$\begin{aligned} a_P &= \frac{r_P}{m_{PP}} \\ a_i &= \frac{r_i - \sum_{j=i+1}^P m_{ij}a_j}{m_{ii}} \quad \text{pour } i = P-1, P-2, \dots, 1 \end{aligned}$$

L'algorithme des pivots est mauvais numériquement du fait du grand nombre de divisions opérées. Mais cet inconvénient n'est pas sensible dans notre application car nos systèmes d'équations sont de taille réduite (exemple : 10 équations pour un polynôme de degré 3).

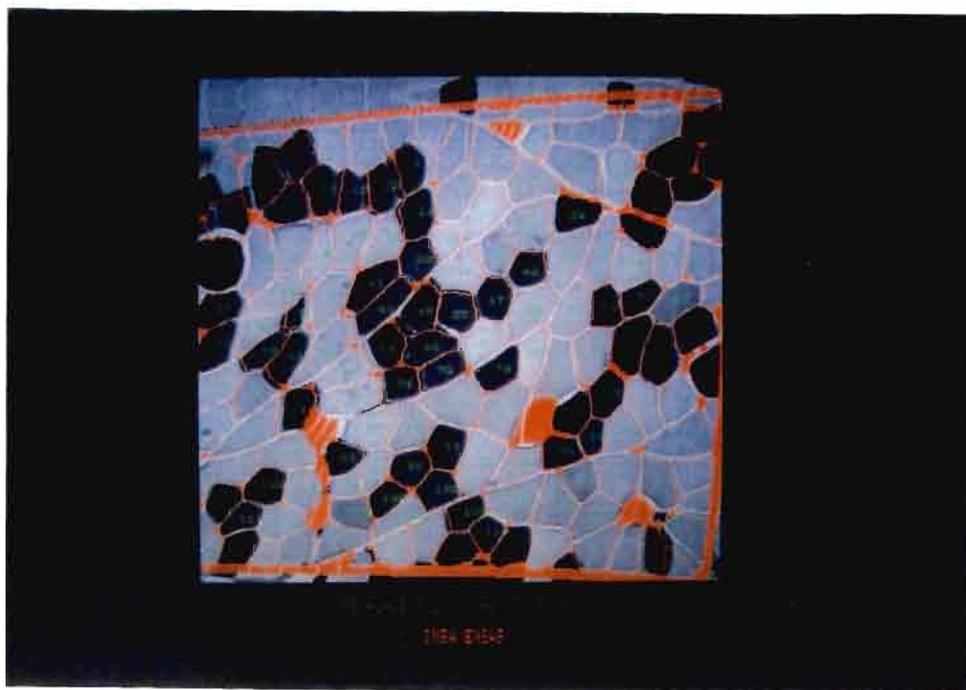


Figure I.2 : Recalage du réseau de référence par un modèle polynômial

I.3.3 Adéquation du modèle à notre application

On présente sur l'image I.2, la superposition d'un réseau inter-fibres (calculé sur une coloration de référence et transformé après passage dans le modèle polynômial) sur une coloration de typage. On peut remarquer que le coin supérieur gauche de l'image a subi une distorsion locale importante vraisemblablement due à un effet mécanique (microtome). L'image I.3 présente la superposition obtenue avec la transformation translation-rotation. Sur cet exemple, on constate l'adaptation du modèle polynômial qui épouse bien la distorsion alors que le modèle translation-rotation ne peut pas l'intégrer.

Validation quantifiée Nous présentons dans le tableau suivant une validation quantifiée du modèle polynômial appliqué à 4 types de colorations (ATP 4,10; ATP 4,35; ATP 10,4; Glycogène). Nous avons saisi en moyenne 15 points d'amer et nous utilisons un polynôme de degré 2.

Coloration	Moyenne	Ecart-type	Nombre d'images
ATP 4,10	2,0%	2,4	55
ATP 4,35	1,7%	1,9	65
ATP 10,4	1,9%	2,3	39
GLY	1,9%	2,0	68

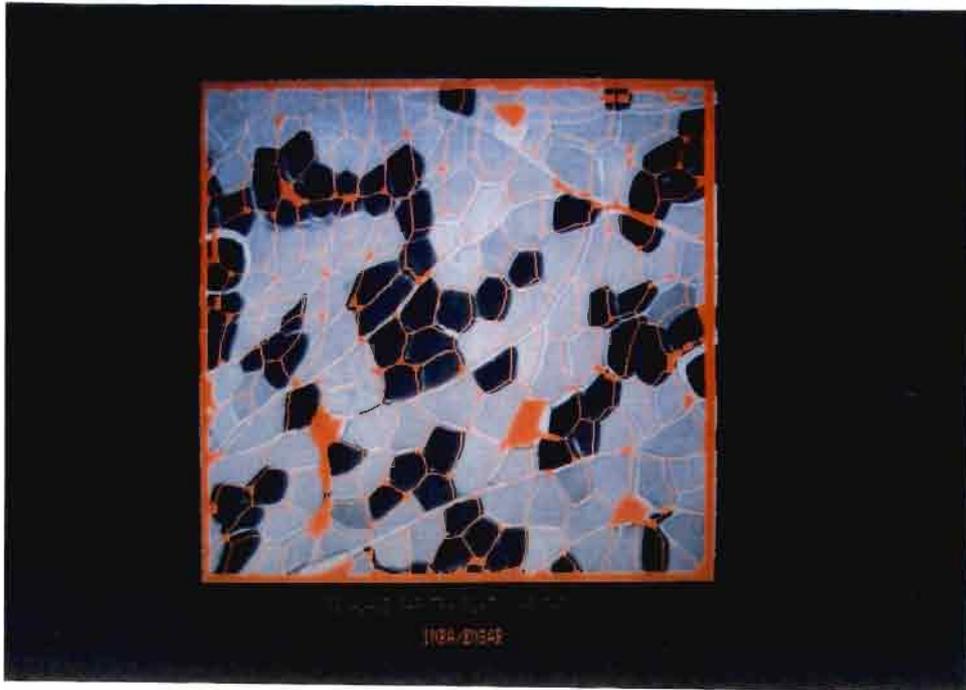


Figure I.3 : Recalage du réseau de référence par un modèle translation-rotation

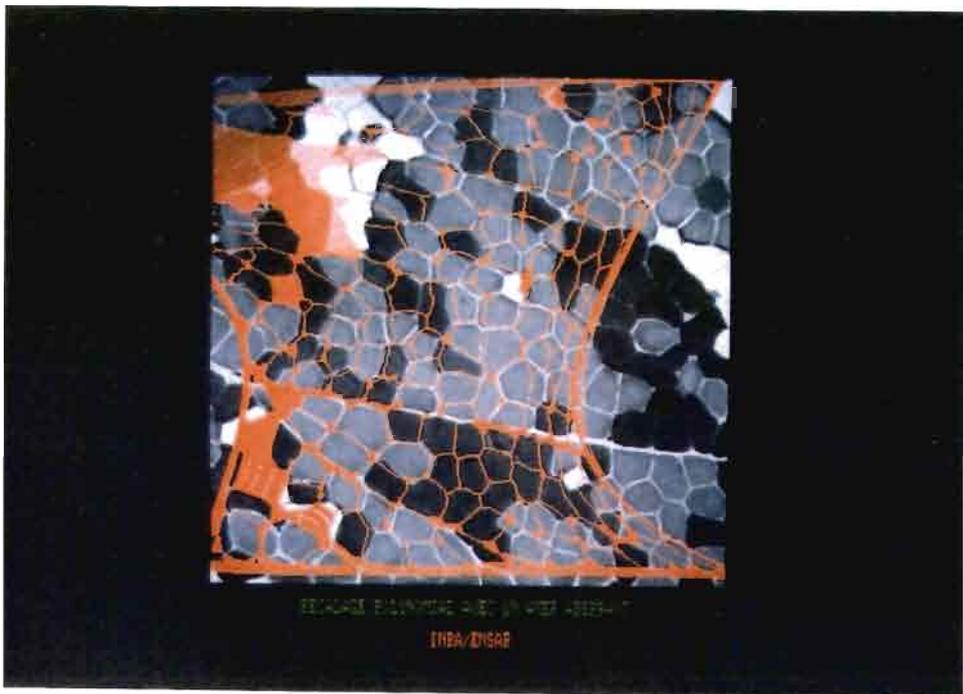


Figure I.4 : Déformation polynômiale aberrante du réseau due à un point d'amer mal placé

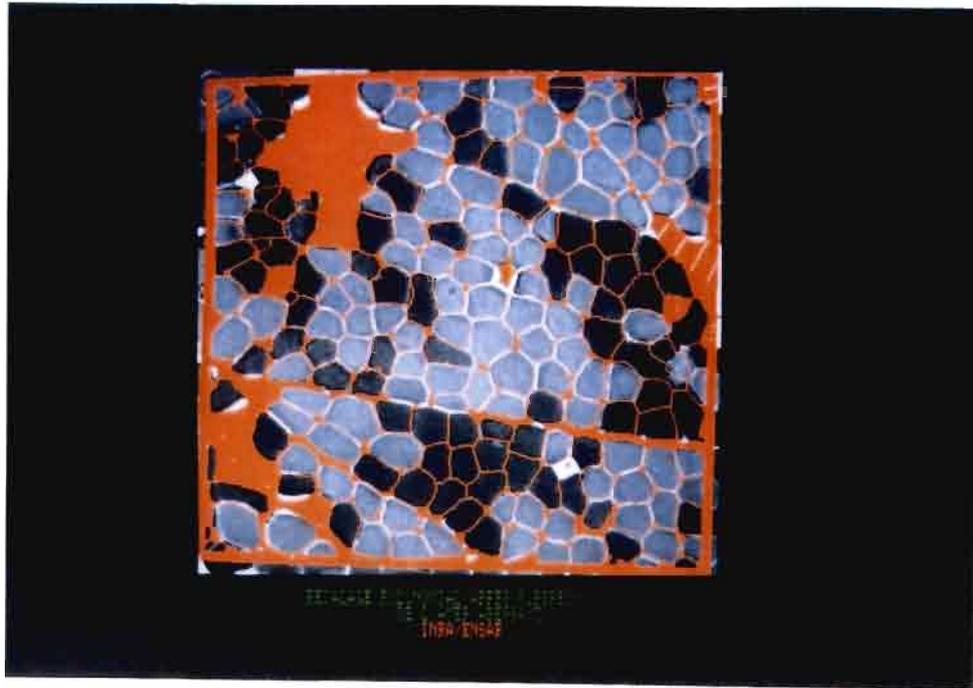


Figure I.5 : Déformation polynômiale du réseau après élimination du point d'amer mal placé

Les résultats sont nettement meilleurs que ceux obtenus avec le modèle translation-rotation : les taux d'erreur sont 2,5 fois moins élevés. Ce résultat a été jugé satisfaisant par l'utilisateur.

Problème des points d'amers aberrants L'inconvénient majeur du modèle polynômial est qu'il manque de robustesse lorsqu'un couple de points d'amer est aberrant. On illustre cette remarque sur l'exemple de l'image I.4 : le réseau inter-fibre est déformé par un polynôme dont les coefficients ont été calculés avec un jeu de points d'amers parmi lesquels se trouve un couple de points aberrants. Sur l'image I.5, le couple de points d'amer aberrant est supprimé. Le réseau déformé se superpose bien à l'image de typage. Cet inconvénient peut être palié car on peut détecter aisément les couples de points aberrants en considérant les résidus d'estimation :

$$\begin{aligned} res_{u_i} &= u_i - \hat{u}_i \\ res_{v_i} &= v_i - \hat{v}_i \end{aligned}$$

Si ces résidus dépassent un seuil trop élevé, on est sûr qu'il s'agit de points aberrants. Comme nous l'avons vu sur l'exemple de l'image I.4 un point aberrant influence beaucoup le modèle et des points corrects peuvent apparaître aberrants (ie $res_u > 4\sigma$)

lors du calcul du premier modèle. Il est donc préférable d'éliminer seulement le point aberrant dont le résidu est le plus élevé puis de recalculer le modèle pour voir s'il en reste d'autres.

Nous écartons donc les points aberrants de la manière suivante :

- (1) Calcul du modèle polynômial
- (2) Calcul des résidus
- (3) Suppression du point aberrant u tel que :
 - $u = \{ \max (|res_{u_i}|) \forall i \in N \}$ (N est le nombre d'amers)
 - et $|res_u| > 4\sigma$ (σ écart-type des résidus)
- (4) Répéter (1),(2),(3) tant qu'il existe un point aberrant

Choix des coefficients du modèle polynômial Nous nous sommes posés la question du choix du degré du polynôme. Jusqu'à quel degré faut-il monter ? Est-ce que tous les coefficients du modèle sont utiles pour la prédiction ?

Pour répondre à ces questions, nous avons effectué une étude statistique dans l'environnement S disponible à l'INRA sur deux jeux de données contenant les amers utilisées pour recalculer deux images sur une image de référence. Dans les tableaux suivants, nous présentons les résultats obtenus par régression multiple et régression progressive. Le critère de qualité retenu est l'écart résiduel standard qui mesure la précision du modèle étudié (en nombre de pixels). Dans ces deux tableaux, nous avons utilisé les abbréviations suivantes :

- ERS = Ecart Résiduel Standard
- MRS = Multiple R-square (coefficient de détermination)
- VEP = Variables Explicatives Principales
- VU = Variables utilisées dans le calcul du meilleur sous-modèle

Régression sur la première image avec un jeu de 104 amers

	$x' = f(x,y)$	$y' = f(x,y)$
degré 2 complet (et meilleur sous-modèle)	ERS = 4,71 MRS = 0,998 VEP = $(x, Cste, xy, y)$	ERS = 4,46 MRS = 0,998 VEP = $(y, Cste, xy, x)$
degré 3 complet	ERS = 4,43 MRS = 0,999 VEP = $(x, Cste, x^2y, xy^2, xy)$	ERS = 4,15 MRS = 0,999 VEP = $(y, Cste, x^3, x^2, xy^2)$
degré 4 complet	ERS = 4,43 MRS = 0,999 VEP = $(x, Cste, x^2y, xy^2, xy)$	ERS = 4,15 MRS = 0,999 VEP = $(y, Cste, x^3, x^2, xy^2)$
meilleur sous-modèle au degré 3	ERS = 4,41 MRS = 0,999 VU = $(x, y^2, y^3, xy, x^2y, xy^2)$ VEP = $(x, Cste, x^2y, xy^2, xy)$	ERS = 4,14 MRS = 0,999 VU = $(y, x^2, x^3, x^2y, xy^2)$ VEP = $(y, Cste, x^2, x^3, xy^2)$
meilleur sous-modèle au degré 4	ERS = 4,60 MRS = 0,999 VU = $(x, y^2, y^3, y^4, xy, x^2y)$ VEP = $(x, Cste, y^2, y^3, x^2y)$	ERS = 4,11 MRS = 0,999 VU = $(x^2, x^3, y, x^2y, xy^2, x^3y)$ VEP = $(y, Cste, x^2, x^3, xy^2)$

Régression sur la seconde image avec un jeu de 45 amers

	$x' = f(x,y)$	$y' = f(x,y)$
degré 2 complet (et meilleur sous- modèle)	ERS = 4,85 MRS = 0,998 VEP = $(x, y, Cste, xy)$	ERS = 18,39 MRS = 0,977 VEP = $(Cste, y^2, xy, x, y)$
degré 3 complet	ERS = 3,44 MRS = 0,999 VEP = $(x, y^2, Cste, y^3, xy^2)$	ERS = 7,63 MRS = 0,996 VEP = $(y^2, Cste, y^3, xy, xy^2)$
degré 4 complet	ERS = 3,59 MRS = 0,999 VEP = $(x, y^2, Cste, y^3, x^3)$	ERS = 7,07 MRS = 0,997 VEP = $(y^2, Cste, y^3, xy, x)$
meilleur sous- modèle au degré 3	ERS = 3,35 MRS = 0,999 VU = (x, x^3, y^2, y^3, xy^2) VEP = $(x, xy^2, Cste, y^2, x^3)$	ERS = 7,57 MRS = 0,996 VU = (x, y^2, y^3, xy, xy^2) VEP = $(Cste, y^2, y^3, x, xy)$
meilleur sous- modèle au degré 4	ERS = 3,35 MRS = 0,999 VU = (x, x^3, y^2, y^3, xy^2) VEP = $(x, xy^2, Cste, y^2, x^3)$	ERS = 7,01 MRS = 0,996 VU = $(x, y^2, y^3, xy, xy^2, x^3y, xy^3)$ VEP = $(Cste, y^2, y^3, xy, xy^2)$

Sur l'ensemble des résultats, le coefficient de corrélation est supérieur à 0,99. Le modèle polynômial est donc bien adapté à la déformation.

Sur les deux tableaux, on voit que le polynôme de degré 3 permet presque toujours d'obtenir la meilleure précision ((3,44; 4,43) sur x' et (4,15; 7,63) sur y'). Les meilleurs sous-modèles calculés par régression progressive sur x' et y' font intervenir presque tous les coefficients du polynôme de degré 3. L'écart résiduel standard est quasiment identique lorsque l'on considère le modèle de degré 3 complet et le meilleur sous-modèle. Nous avons donc finalement retenu un modèle polynômial de degré 3 incluant tous les coefficients.

Nous terminons ce chapitre par la constatation suivante : le choix du modèle polynômial nécessite un plus grand nombre de points d'amer sur les deux images à recalcr que pour le modèle translation-rotation (exemple : 15 points pour un polynôme de degré 2 alors que 4 points suffisaient pour une translation-rotation). Pour pallier cet inconvénient, nous avons mis au point une méthode de détermination automatique des points d'amer que nous présentons dans le chapitre suivant.

Chapitre II

Détermination automatique d'amers pour le recalage des images

.

II.1 Introduction

Comme nous l'avons vu, l'utilisation d'un modèle de déformation polynômial nécessite de disposer d'un nombre important de points d'amer. Il paraît alors intéressant d'essayer de déterminer automatiquement ces points par une méthode de mise en correspondance d'images. Dans la section II.2, nous discutons les travaux présentés dans la bibliographie susceptibles d'être appliqués à notre problème. Dans la section II.3 nous proposons une solution adaptée à notre application.

II.2 Etude de la mise en correspondance dans la bibliographie

L'élaboration d'une stratégie de mise en correspondance peut être vue comme le choix :

- du niveau de représentation des objets à mettre en correspondance
- de la structure de contrôle qui manipule ces objets pour obtenir une mise en correspondance

De nombreuses méthodes ont été proposées pour résoudre ce problème. Nous essayons dans cette section de dégager celles qui peuvent le mieux s'appliquer à nos images.

II.2.1 Matrice de pixels

C'est le niveau de représentation le moins élaboré. On compare deux fenêtres extraites des matrices de pixels constituant les deux images, soit binaires, soit en niveaux de gris (voir [Rosenfeld82] ou [Ballard82]).

La comparaison entre deux fenêtres de pixels représentées par les fonctions f et g s'effectue en calculant une mesure de similarité du type :

$$\begin{aligned}\mu(u, v) &= \sum_{(x,y) \in A} (f(x, y) - g(x + u, y + v))^2 \\ &= \sum_{(x,y) \in A} (f(x, y))^2 + \sum_{(x,y) \in A} (g(x + u, y + v))^2 \\ &\quad - 2 \sum_{(x,y) \in A} f(x, y)g(x + u, y + v)\end{aligned}$$

où A est l'ensemble des pixels de la fenêtre de calcul, (u, v) représente chaque centre de fenêtre sur laquelle on calcule la mesure de similarité. Si l'on suppose qu'il n'y a pas de problème d'éclairément sur l'image (par exemple : dérive de luminosité), on peut écrire que :

$$\sum_{(x,y) \in A} (g(x + u, y + v))^2 = Cste \quad \forall (u, v)$$

Par ailleurs,

$$\sum_{(x,y) \in A} (f(x, y))^2 = Cste$$

La fonction de similarité se ramène donc à une corrélation croisée :

$$\mu(u, v) = \sum_{(x,y) \in A} f(x, y)g(x + u, y + v)$$

et la meilleure correspondance est obtenue pour le couple de points $((x, y), (x + u^*, y + v^*))$ tel que :

$$\mu(u^*, v^*) = \max \mu(u, v)$$

Il est parfois nécessaire de normaliser les niveaux de gris des images comparées, la mesure normalisée devient donc :

$$\begin{aligned}\mu(u, v) &= \sum_{(x,y) \in A} \frac{(f - \mu)(g - \nu)}{\sqrt{\sum_{(x,y) \in A} (f - \mu)^2 \sum_{(x,y) \in A} (g - \nu)^2}} \\ &= \frac{((\sum_{(x,y) \in A} \frac{fg}{A}) - \mu\nu)}{\sigma\tau}\end{aligned}$$

avec (μ, σ) (resp. (ν, τ)) les moyennes et écart-types calculés sur l'image f (resp. l'image g).

Cette méthode a l'inconvénient d'être coûteuse en temps machine. La position recherchée ne correspond pas toujours au maximum principal mais parfois à un maximum secondaire. Elle est également sensible aux changements de formes des objets en taille et orientation. Dans notre application, elle ne met pas explicitement à profit l'information réseau de branches que nous avons réussi à extraire des images de référence et des images à recaler. Nous n'avons donc pas retenu cette méthode.

II.2.2 Points caractéristiques

Une meilleure stratégie consiste à apparier des points caractéristiques qui ont une forte probabilité d'être présents dans les deux images : points de Moravec ou points maxima locaux du gradient par exemple. Ce sont des points à forte variance directionnelle. La sélection de ces points peut se faire de la manière suivante :

- les points de Moravec ([Moravec77]) : on calcule le minimum des différences des niveaux de gris des pixels d'une fenêtre $n \times n$ dans les quatre directions puis on recherche le maximum local dans une fenêtre $m \times m$ de l'image des minimas. Dans [Anglade86], n est fixé à 4 et m à 15.
- les maxima locaux de la dérivée filtrée ([Anglade86]) : on applique un filtre médian 3×3 suivi d'un filtre de Sobel et on extrait les maxima locaux sur des fenêtres 15×15 de l'image des amplitudes du gradient.

Leur extraction est moins sensible aux conditions de prise de vue et leur nombre dans l'image est nettement moins élevé, ce qui permet de travailler sur des algorithmes d'appariements plus robustes et plus rapides. L'affectation des points caractéristiques d'une image à ceux situés sur l'autre image peut être réalisée, par exemple, par une méthode de relaxation ou de programmation dynamique.

Relaxation Barnard et Thompson [Barnard80] proposent un modèle de relaxation pour analyser le mouvement entre deux images. Pour décider de l'appariement d'un objet d'une image à une autre, on tient compte des décisions prises dans le voisinage.

Par exemple, si l'on constate un déplacement dans une certaine direction dans le voisinage de l'objet, on augmentera la probabilité qu'il y ait un déplacement dans la même direction pour cet objet. L'hypothèse sous-jacente à cette méthode est la continuité du déplacement dans le voisinage.

Plus précisément, Barnard détecte les points de Moravec dans les deux images. Il considère l'ensemble des points de l'image 2 $\{(x'_j, y'_j)\}$ présents dans une fenêtre (de taille 5x5 pixels) centrée autour d'un point (x_i, y_i) détecté dans l'image 1. Les couples de points $\{(x_i, y_i), (x'_j, y'_j)\}$ forment des hypothèses d'appariement. On associe à ces hypothèses une probabilité initiale qui est ensuite mise à jour itérativement en fonction des configurations constatées dans le voisinage. Théoriquement on arrête le processus lorsque le système se stabilise (il n'y a plus de variation des probabilités) mais en pratique, le nombre d'itérations est déterminé empiriquement (10 itérations dans l'article de Barnard). Bien que le niveau de représentation choisi nous semble peu adapté à notre application, la stratégie de contrôle a attiré notre attention car elle tire bien parti du voisinage spatial pour lever les ambiguïtés d'appariement. Nous développerons plus en détail cette stratégie de contrôle lorsque nous présenterons l'algorithme que nous avons implémenté.

Programmation dynamique Anglade, Maitre et Bousquet [Anglade86] propose une méthode de propagation automatique de points d'amers pour le recalage de deux images. Ils se placent dans le cadre d'hypothèse où il n'est pas possible d'extraire de l'image les composantes de la scène de manière robuste. Ils proposent une méthode semi-automatique dans laquelle on commence par positionner manuellement sur l'image quelques amers. Par la suite, l'algorithme proposé détermine automatiquement d'autres amers répartis de manière homogène sur l'image. A chaque étape, l'algorithme ajoute un nouvel amer de la manière suivante :

- (1) proposition d'une position idéale pour le nouvel amer sur les deux images
- (2) détection de points caractéristiques au voisinage de cette position idéale
- (3) appariement des points caractéristiques détectés sur les deux images

La recherche d'une position idéale pour le $n + 1^{eme}$ amer se fait à partir d'une tessellation de Voronoï de l'image, associée à la répartition des n amers déjà présents. Anglade démontre que la position idéale se trouve sur l'un des sommets de la tessellation de Voronoï (voir figure II.1). Plus exactement : soit $E_n = \{M_i, i = 1, \dots, n\}$ l'ensemble des n amers, il définit la distance d'un point M à E_n par :

$$d(M) = \min(M_i, M) \quad \forall i = 1, \dots, n$$

Soit S l'ensemble des sommets de la tessellation, le point idéal N vérifie :

$$d(N) > d(M') \quad M' \in S$$

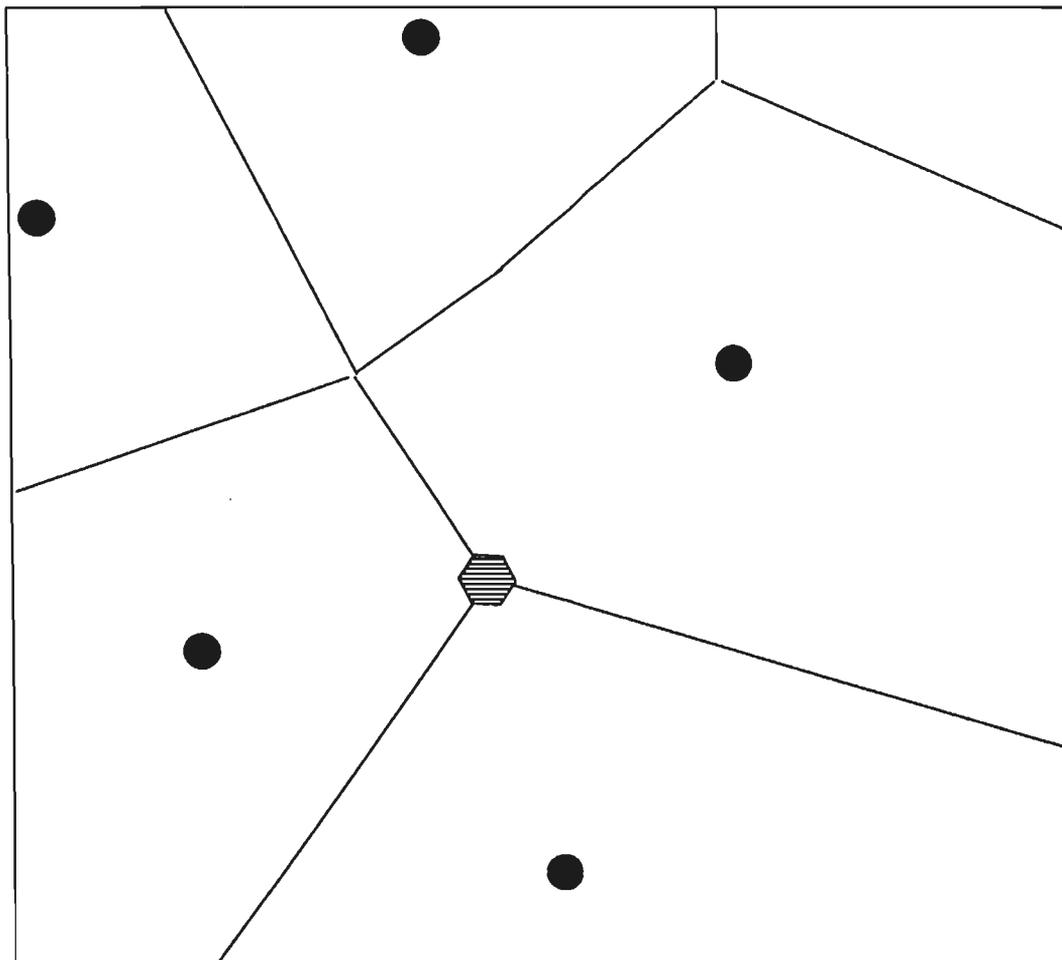


Figure II.1 : Choix de la position idéale sur l'un des sommets de la tessellation de Voronoï : le point idéal est en grisé, les points amers en noir

La recherche du point idéal est faite sur une seule des deux images. En utilisant le modèle de déformation estimé sur les n premiers amers, on trouve la position du point idéal sur la deuxième image. On considère les deux ensembles de points de Moravec présents dans une fenêtre centrée sur ce couple de points idéaux comme listes de points candidats à la mise en correspondance :

$$X = \{x(i), i = 1, \dots, n\}$$

$$X' = \{x'(j), j = 1, \dots, m\}$$

Les auteurs utilisent un algorithme de programmation dynamique pour optimiser le recalage. Ils construisent un arbre dont chaque noeud est une association possible d'un point de X avec un point de X' . Une branche définit donc une succession d'appariements de points. La meilleure branche est sélectionnée en utilisant une fonction de coût incrémentée à chaque insertion d'un nouveau noeud dans la branche. Cette fonction est la somme de trois coûts :

- un coût de similarité entre les deux points caractéristiques appariés
- un coût de distance au modèle géométrique
- un coût d'insertion du noeud dans le chemin existant

L'algorithme de Anglade, Maitre et Bosquet nous a paru très intéressant car il choisit les endroits où il veut positionner des amers de manière à ce que la répartition soit la plus homogène possible. Mais cette méthode ne semble pas utile dans notre problème car nous pensons que la structure de réseau présente peut être considérée comme une sorte de tessellation *naturelle* du plan. Il nous a donc semblé naturel de l'exploiter. Le problème de l'homogénéité ne se pose pas car le *maillage* du réseau inter-fibres est relativement homogène sur l'image.

II.2.3 niveau segment de droite

Les points caractéristiques extraits de l'image sont encore très nombreux et pas toujours représentatifs. Il est alors préférable d'utiliser des primitives de plus haut niveau comme les contours des objets.

Pour cela, on peut appliquer un algorithme du type :

- (1) détection de contours basé sur le calcul de l'amplitude du gradient
- (2) chaînage des points contours ([Deriche87b])
- (3) approximation polygonale des contours ([Pavlidis74])

Les segments obtenus peuvent être décrits par plusieurs attributs comme les coordonnées du point milieu, la longueur et l'orientation du segment par rapport à l'axe horizontal. Les méthodes de mise en correspondance utilisant des segments sont rapides, peu sensibles aux conditions de prise de vue et bien adaptées aux contraintes géométriques du problème à résoudre. Elles s'appliquent notamment aux problèmes de reconnaissance automatique de pièces industrielles [Ayache86], [Ayache89].

Le niveau de représentation segment de droite nous semble bien adapté à l'information réseau disponible dans la coloration de référence. Une branche peut être représentée par une liste de segments de droites. Par contre, l'information réseau disponible dans les colorations à recaler s'y prête moins bien en général. En effet, on constate beaucoup de cassures dans les branches, difficiles à fermer automatiquement. Des fausses branches sont également présentes. Ceci est dû au fait que ces images ne sont pas prévues pour apporter une information structurelle mais une information fonctionnelle concernant les fibres. Pour ces raisons, il nous a semblé qu'une procédure de type génération-vérification d'hypothèses [Ayache86] basée sur les segments de droites n'était pas adaptée à l'application.

II.2.4 Niveau graphe

Les techniques de modélisation de scène sous forme de graphe sont utilisées dans la bibliographie pour représenter des invariants topologiques [Rosenfeld82], [Ballard82]. Un objet est décomposé en primitives (par exemple des segments de droite) qui forment les noeuds du graphe. Les arcs du graphe représentent l'information topologique reliant les noeuds : par exemple

- les relations de colinéarité, d'adjacence ou d'anti-parallélisme dans [Cheng81] (voir figure II.2)
- les relations angulaires dans [Milgram87]
- les relations de jonction, de colinéarité, de gauche et de droite dans [Skordas88] (voir figure II.3)

Si l'on réussit à dégager une représentation topologique discriminante pour les objets que l'on veut mettre en correspondance, alors cette modélisation nous affranchit en partie des problèmes engendrés par les détecteurs bas niveau, par exemple : un segment de droite extrait dans l'image 1 se retrouve décomposé, à cause du bruit, en une succession de 2 ou 3 petits segments dans l'image 2.

D'un autre côté, l'inconvénient de l'approche graphe est la complexité algorithmique du processus de mise en correspondance. Il s'agit de rechercher un isomorphisme entre les deux graphes [Miclet84]. L'algorithme permettant de déterminer

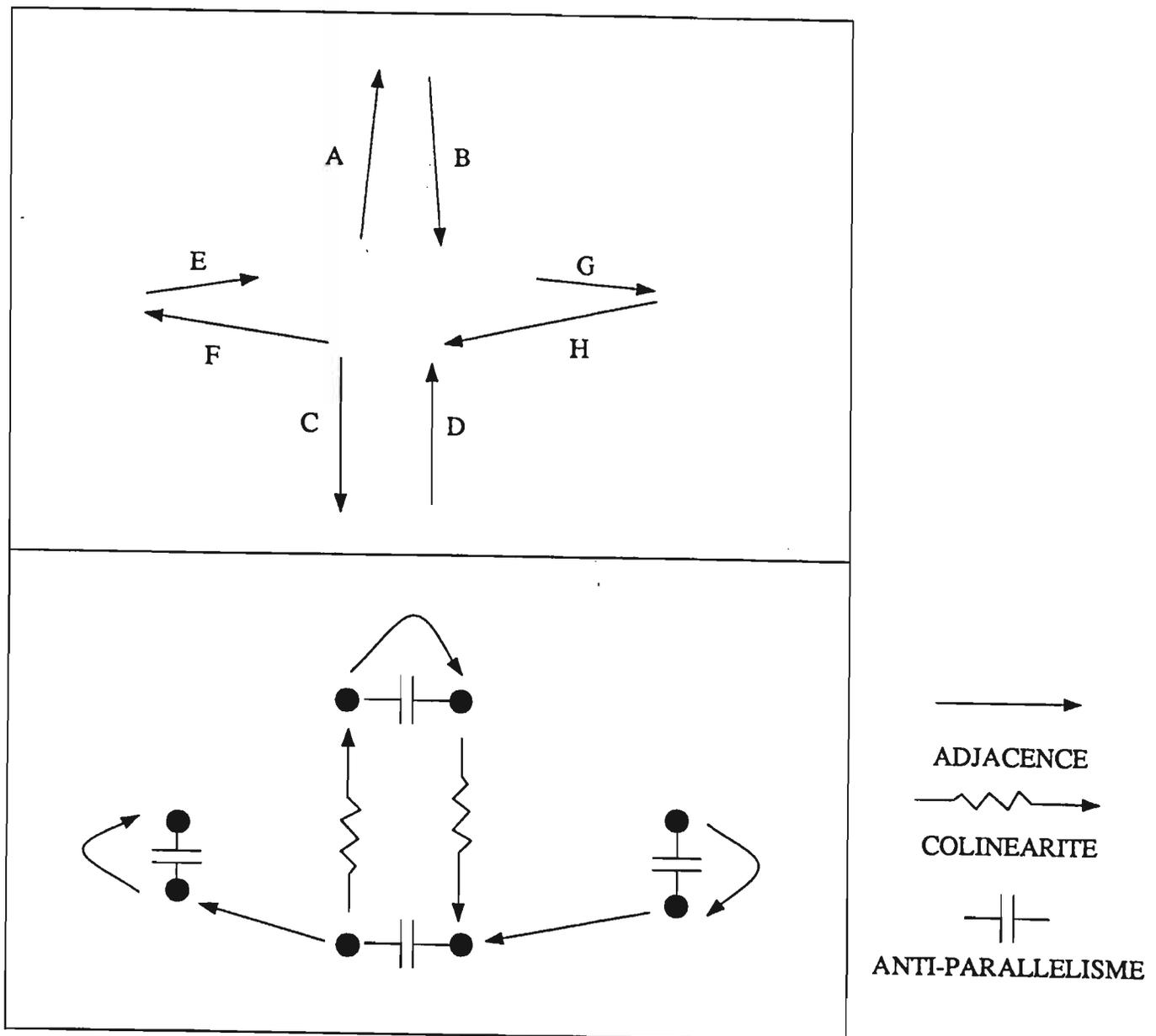


Figure II.2 : Relations topographiques dans un graphe décrivant un avion. les segments de A à D représentent le fuselage, ceux de E à H les ailes

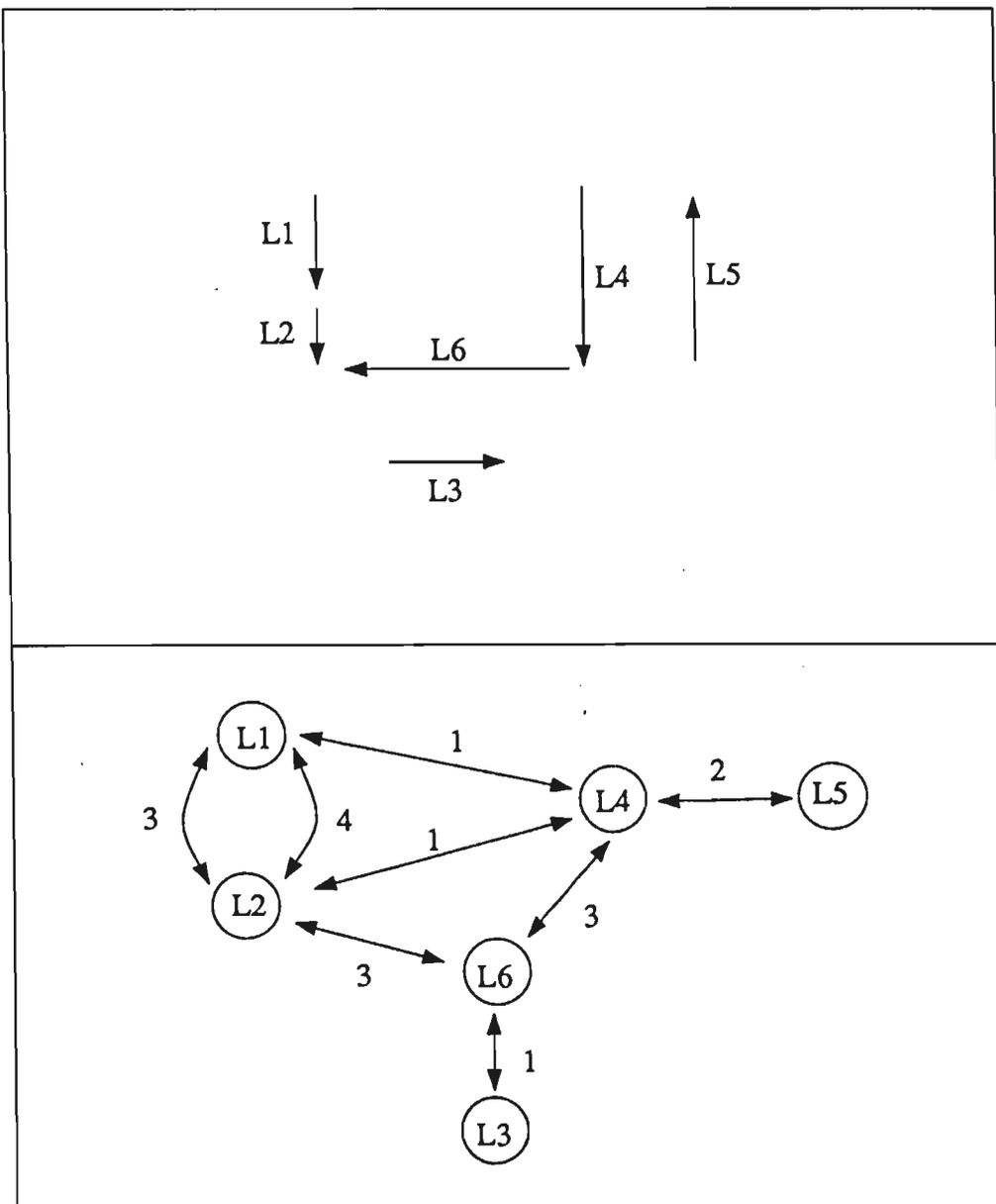


Figure II.3 : Un ensemble de 6 segments (A) et le graphe relationnel associé (B), les numéros représentent les relations topographiques : 1. à gauche, 2. à droite, 3. même jonction, 4. colinéarité

si deux graphes sont isomorphes est combinatoire ; il consiste à chercher toutes les correspondances licites et à tester pour chacune s'il y a un isomorphisme. Par licite, on entend une correspondance telle que les noeuds associés ont même nombre d'arcs entrants et sortants. Si V_x représente le nombre d'arcs de l'un des deux graphes, dans le pire des cas, l'algorithme est en $O(|V_x|!)$.

Pour mettre en oeuvre cette méthode, il est donc nécessaire de trouver des stratégies pour restreindre l'espace de recherche. Ces stratégies s'appliquent à deux niveaux :

- (1) **Au niveau de la mise en correspondance des noeuds** : on essaye de restreindre le nombre d'étiquettes d'appariement de couples de noeuds. En stéréovision par exemple [Skordas88], on utilise les contraintes géométriques d'épipolarité pour limiter l'espace de recherche.
- (2) **Au niveau de la mise en correspondance des arcs** : on utilisera un critère global pour déterminer le couple de noeuds à apparier parmi la liste des candidats possibles. Par exemple, on utilisera un processus de relaxation ou un algorithme de recherche de cliques.

Processus de relaxation On peut calculer un critère de similarité entre les noeuds de G et ceux de H . Pour éviter une recherche combinatoire des meilleurs appariements au sens de ce critère, on peut mettre en oeuvre un processus de relaxation [Rosenfeld82], [Milgram87] : Soit $\mu(m, n)$ le facteur de mérite associé à l'appariement des noeuds m et n , basé sur le critère de similarité. $\mu(m, n)$ sera renforcé si pour chaque n_j , il existe un m_i tel que $\mu(m_i, n_j)$ est élevé et les arcs (m, m_i) et (n, n_j) ont même étiquette. Si le meilleur choix pour m_i donne un mérite faible à (m_i, n_j) ou si la différence entre les étiquettes de (m, m_i) et (n, n_j) est élevée alors $\mu(m, n)$ est diminué. Après quelques itérations, le processus tend à se stabiliser avec des facteurs de mérite élevés pour les bons appariements et faibles pour les autres.

Recherche de cliques A partir des listes d'appariements de noeuds (par exemple des segments de droite [Skordas88]), on utilise des règles de compatibilité / incompatibilité entre appariements qui reposent sur les relations topographiques entre noeuds. Par exemple, soient deux appariements (s_1, s_2) et (s'_1, s'_2) . Si dans l'image 1, le segment s_1 est à gauche du segment s'_1 alors il faut que le segment s_2 soit à gauche du segment s'_2 dans l'image 2 pour que les deux appariements soient déclarés compatibles. Dans le cas contraire, on les déclare incompatibles. L'application de ces règles permet de construire un nouveau graphe (appelé graphe de correspondance) dont les noeuds sont les appariements potentiels entre noeuds extraits dans les deux images et les arêtes sont les liens de compatibilité entre appariements. Les correspondances entre les deux images sont alors définies comme les ensembles d'appariements mutuel-

lement compatibles. Ce qui revient à déterminer les sous-graphes complets (appelés cliques) de ce graphe.

Conclusion : Dans notre application, les relations topologiques ne permettent pas de discriminer deux fibres. Il est donc difficile de déterminer un invariant topologique permettant de réaliser la mise en correspondance de manière robuste. La solution que nous allons présenter dans la section suivante est donc un compromis se situant entre la mise en correspondance des noeuds et celle des arcs.

II.3 Mise en oeuvre de la recherche automatique des amers

Les objectifs que nous nous fixons dans l'élaboration de cette procédure de recherche automatique des amers sont :

- obtenir un nombre suffisant d'amers pour l'estimation du modèle polynômial. Mais il n'est pas nécessaire de trouver un appariement pour chaque primitive détectée dans l'image. L'estimation de la déformation dans les régions où l'on a pas trouvé d'appariement se fera en utilisant le modèle polynômial. Par contre, il est souhaitable d'avoir des points répartis de manière homogène sur l'image afin de pouvoir appréhender toutes les déformations locales susceptibles d'être présentes dans l'image.
- obtenir un pourcentage de faux couples d'amers assez faible pour avoir par la suite une bonne estimation de la déformation avec le modèle polynômial. Toutefois, nous avons vu dans le chapitre précédent qu'il est possible d'écarter automatiquement des amers aberrants.

Dans la sous-section II.3.1, nous proposons un niveau de représentation adapté à notre application. Dans la sous-section II.3.2 nous présentons la structure de contrôle que nous avons développée pour effectuer l'appariement des points d'amer et dans la sous-section II.3.3, nous discutons l'adéquation de la procédure de mise en correspondance.

II.3.1 Choix d'un niveau de représentation

L'information présente dans nos images est relativement simple à décrire. Elle est composée de points multiples et de branches. L'unité élémentaire d'information peut être définie comme :

- un point multiple



Figure II.4 : Les intersections détectées sur la coloration de référence sont visualisées en rouge

- les branches qui lui sont associées

C'est le niveau d'information (voir figure II.6) que nous avons choisi pour la procédure de mise en correspondance. Il réalise à notre avis le compromis entre le niveau point caractéristique (qui nous paraît trop élémentaire) et le niveau graphe (qui nous paraît trop riche vu le peu de complexité de l'information topologique que nous manipulons). Dans la suite de cet exposé, nous appellerons ce niveau de représentation *intersection* (voir les images des intersections détectées sur la coloration de référence II.4 et sur une coloration à recalier II.5).

Structure associée à une intersection : Une intersection est définie par la position de son point multiple et les coordonnées des pixels situés sur ses branches. Ces pixels sont stockés dans un tableau monodimensionnel (voir figure II.6). On les code sur $LMAX$ pixels de long ($LMAX$ est fixé empiriquement à 16) sous forme de déplacement de pixel à pixel par un codage de Freeman.

Critère de similarité : Afin de pouvoir comparer deux intersections appartenant à chacune des deux images, nous avons supposé que localement la transformation permettant de passer d'une image à l'autre est une translation. Nous avons défini un critère de similarité entre intersections basé sur le calcul des différences entre branches.

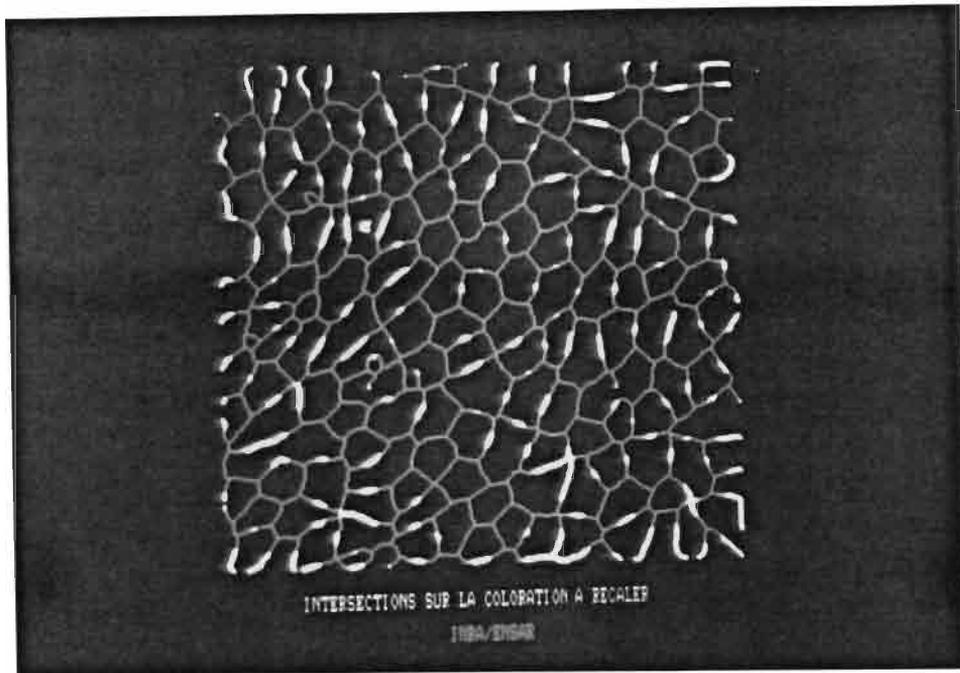


Figure II.5 : Les intersections détectées sur la coloration à recaler sont visualisées en rouge

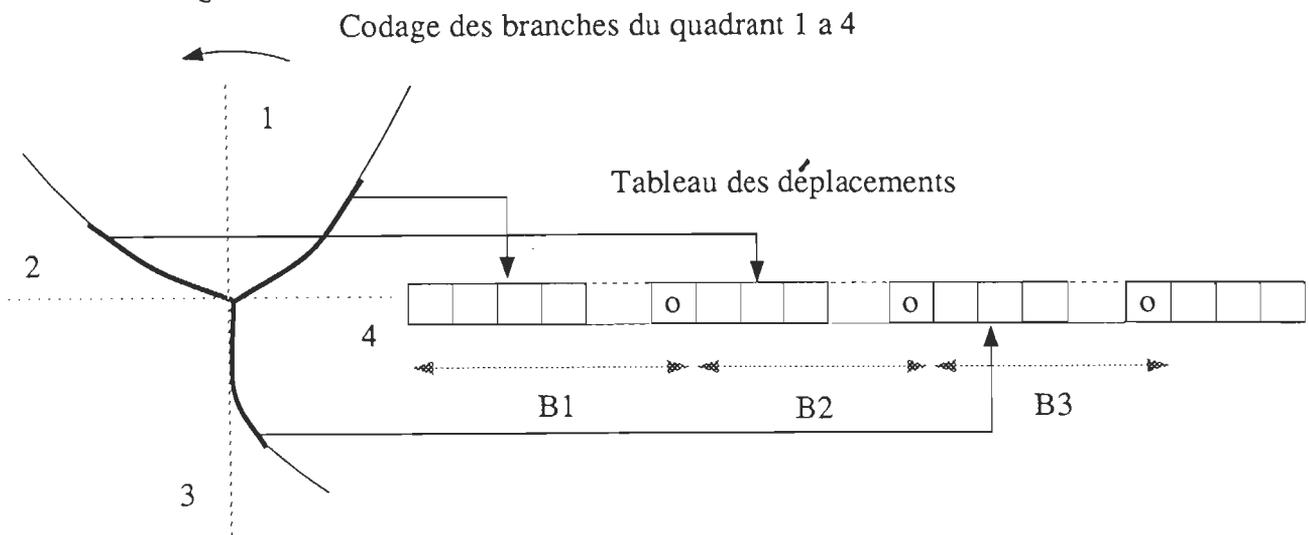


Figure II.6 : Structure d'un point multiple

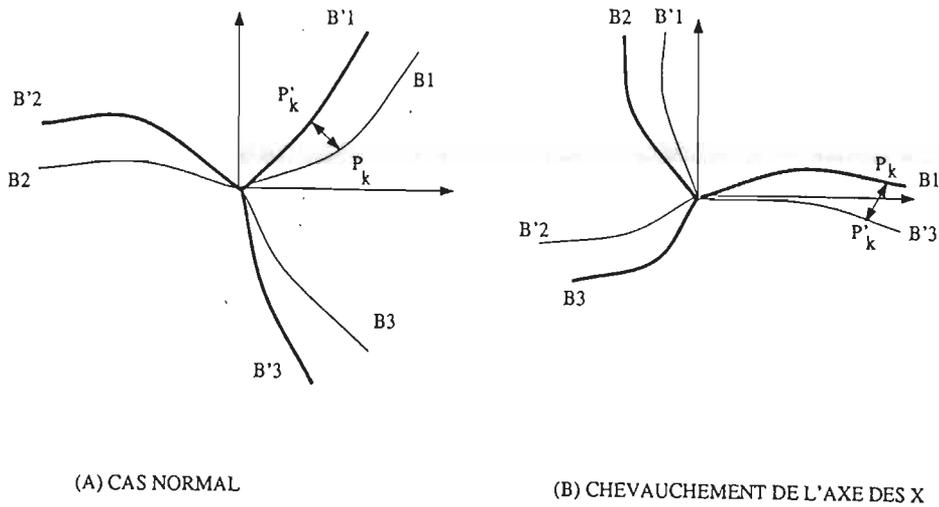


Figure II.7 : Fonction de similarité entre intersections

Ce critère intègre à la fois les différences angulaires et des différences de formes entre les branches. Soient deux intersections représentées par leur point multiple O (resp. O') et leurs branches (B_1, B_2, B_3) (resp. (B'_1, B'_2, B'_3)) (voir figure II.7). On superpose tout d'abord les origines des deux intersections. Puis, pour chaque couple de branches appariées (B_i, B'_i) , on cumule le carré des différences des coordonnées des pixels :

$$d_i = \sum_{k=1}^{\min(L(B_i), L(B'_i))} \text{dist}_8(P_k \in B_i, P'_k \in B'_i)^2$$

avec $L(B_i)$ (resp. $L(B'_i)$) la longueur de la branche B (resp. B'_i) et $\text{dist}_8(P_k, P'_k) = \max(|P_k.\text{coordx} - P'_k.\text{coordx}|, |P_k.\text{coordy} - P'_k.\text{coordy}|)$. Puis on normalise la valeur d_i en la divisant par le nombre de pixels sur lequel on a effectué le cumul, noté n :

$$d_i = \frac{d_i}{n}$$

On itère ce cumul sur toutes les branches appariées des deux intersections :

$$d = \sum_i d_i$$

Remarque : Comme la numérotation des branches se fait à partir de l'horizontale dans le sens des aiguilles d'une montre, il faut calculer le critère de similarité pour deux cas d'appariements $(\{(B_1, B'_1), (B_2, B'_2), (B_3, B'_3)\} \text{ et } \{(B_1, B'_3), (B_2, B'_1), (B_3, B'_2)\})$ afin de tenir compte du fait que deux branches à appairier peuvent chevaucher l'axe horizontal. L'appariement retenu est celui pour lequel on obtient la plus petite valeur. Cette remarque est illustrée sur la figure II.7.

L'utilisation directe de ce critère de similarité (en fixant un seuil d'appariement ou en sélectionnant le meilleur score dans une fenêtre donnée) ne permet pas d'avoir

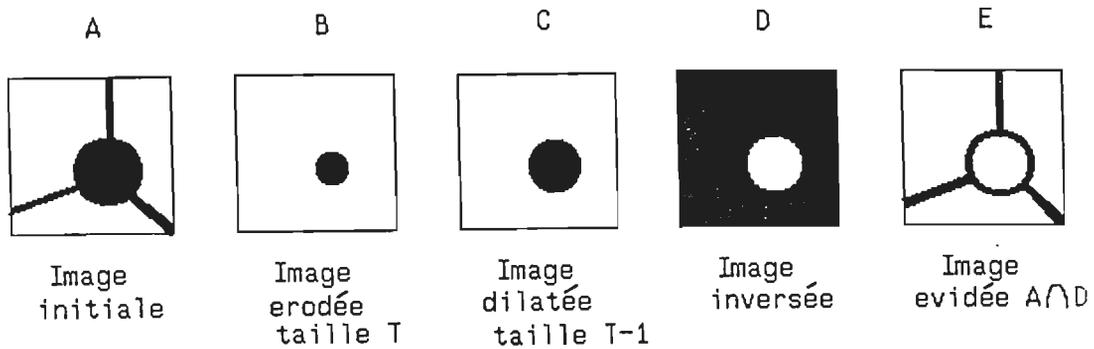


Figure II.8 : Elimination des grandes surfaces en représentation schématique

un résultat satisfaisant. Il arrive en effet que le véritable appariement ne soit dans la fenêtre considérée qu'un maximum secondaire de la fonction de similarité. Nous avons donc envisagé d'utiliser une structure de contrôle de type relaxation pour enrichir la décision concernant une intersection avec les décisions prises dans le voisinage.

Prétraitement : La recherche des intersections peut se faire directement sur les images à recaler auxquelles on a fait subir l'algorithme d'extraction du réseau présenté dans le chapitre 4 de la partie 1. Pour les colorations de référence, nous disposons de réseaux validés obtenus après application de l'algorithme présenté dans le chapitre 3 de la partie 1. Les régions d'inter-fibres épais ont été restituées sur ces réseaux validés. Il est donc nécessaire d'appliquer un algorithme de squelettisation afin de pouvoir détecter les points multiples. Dans cette procédure, il faut d'abord, pour éviter d'obtenir de faux points multiples, éliminer les grandes surfaces (correspondant à de l'inter-fibres épais) avant de squelettiser. L'algorithme appliqué sur le réseau validé de la coloration de référence (voir figure II.9) est donc le suivant :

- Elimination des grandes surfaces (inter-fibres épais) par (voir figure II.8 et image II.10) :
 - Erosion du réseau par un élément structurant de taille T puis dilatation avec un élément de taille $T-1$ (on fixe T à 6)
 - Inversion de l'image érodée
 - Intersection du réseau initial et de l'image inversée.
- Phase de squelettisation (voir image II.11)
- Phase d'ébarbulage (voir image II.12)

II.3.2 Description de la structure de contrôle

Comme nous l'avons signalé dans la sous-section précédente, il nous semble intéressant d'intégrer l'information présente dans le voisinage pour améliorer la robustesse



Figure II.9 : Le réseau binaire validé après extraction automatique



Figure II.10 : Elimination des grandes surfaces

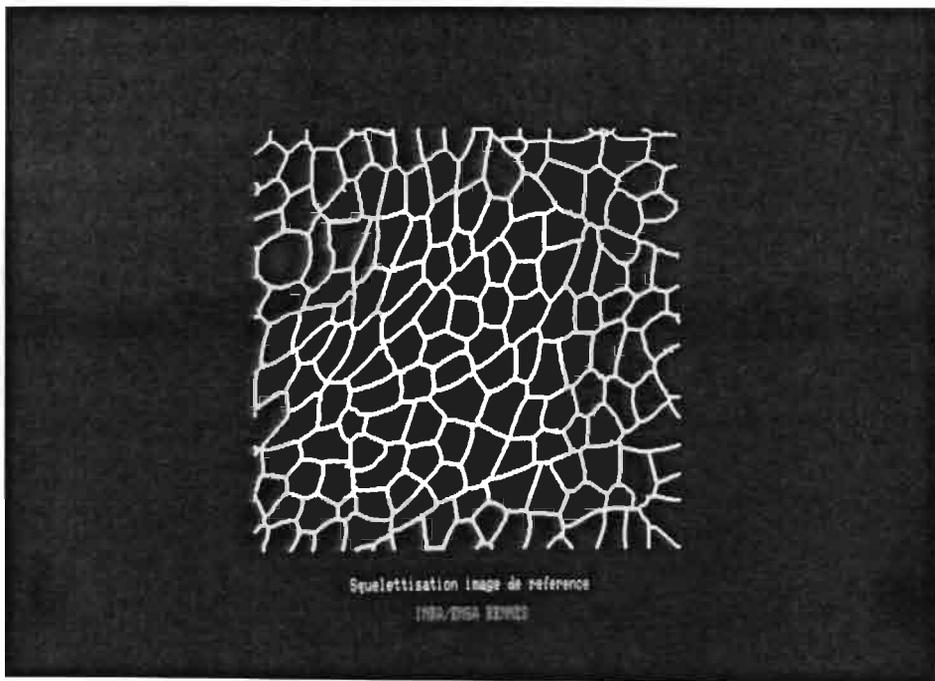


Figure II.11 : Phase de squelettisation



Figure II.12 : Phase d'ébarbulage

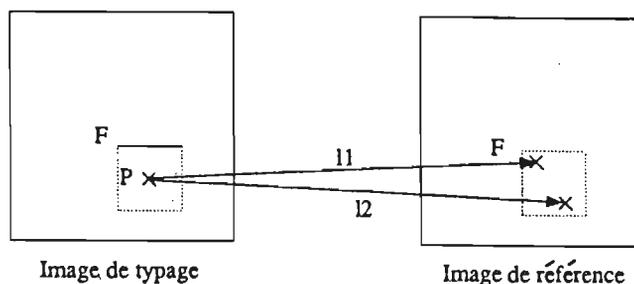


Figure II.13 : Représentation d'étiquettes

de la procédure de décision d'appariement basée sur le critère de similarité. Si dans le voisinage d'une intersection on constate plusieurs fois des appariements d'intersections de forte probabilité dans une direction, la probabilité d'appariement dans cette direction pour l'intersection traitée est renforcée. Pour implémenter cette idée, nous nous sommes inspirés de l'algorithme itératif proposé par Barnard ([Barnard80]) dans lequel il faut définir :

- un niveau de représentation de l'information en mouvement.
- un étiquetage: c'est-à-dire les déplacements possibles des points.
- une initialisation des probabilités de ces étiquettes.
- une fonction d'interaction avec le voisinage.
- une récurrence pour la mise à jour des probabilités.
- un test d'arrêt.

Niveau de représentation On choisit le critère de similarité défini ci-dessus.

Étiquetage Dans une fenêtre F centrée autour d'un point P de l'image de typage, on considère les points que l'on trouve dans l'image de référence. On associe à chaque appariement possible une étiquette. On considère également une hypothèse l^* de non appariement, car comme nous l'avons dit dans l'introduction, il n'est pas nécessaire d'apparier toutes les intersections. (voir figure II.13).

Initialisation des probabilités associées aux étiquettes Les probabilités associées aux étiquettes sont initialisées à partir des coefficients de similarité calculés pour chaque point i et pour chaque étiquette l (noté $s_i(l)$) :

$$\omega_i(l) = \frac{1}{1 + s_i(l)} \quad 0 \leq \omega_i(l) \leq 1$$

On initialise la probabilité de non appariement du point i par :

$$p_i^0(l^*) = 1 - \max_{l^* \neq l} \omega_i(l)$$

On initialise la probabilité d'appariement associée à l'étiquette l par :

$$p_i^0(l) = p_i(l/i) * (1 - p_i^0(l^*)) \text{ (Règle de Bayes)}$$

avec

$$p_i(l/i) = \frac{\omega_i(l)}{\sum_{l^* \neq l} \omega_i(l)}$$

De cette manière, les p_i vérifient :

$$0 \leq p_i(l) \leq 1 \quad \forall l$$

et

$$\sum_l p_i(l) = 1$$

Fonction d'interaction avec le voisinage On définit la notion de voisinage spatial et celle de voisinage sur les étiquettes par :

- (1) j voisin de i si $\max(|x_i - x_j|, |y_i - y_j|) \leq D_{spatiale}$
- (2) l' voisine de l si $\max(|l_x - l'_x|, |l_y - l'_y|) \leq D_{etiquette}$

l_x et l'_x (resp l_y et l'_y) représentent les vecteurs de translation suivant la direction x (resp y).

On quantifie l'interaction par:

$$q_i^k(l) = \sum_{j, i \neq j, j \in V(i)} \left[\sum_{l', |l-l'| \leq \alpha} p_j^k(l') \right] \text{ pour } (l \neq l')$$

avec k = indice d'itération .

(voir figure II.14).

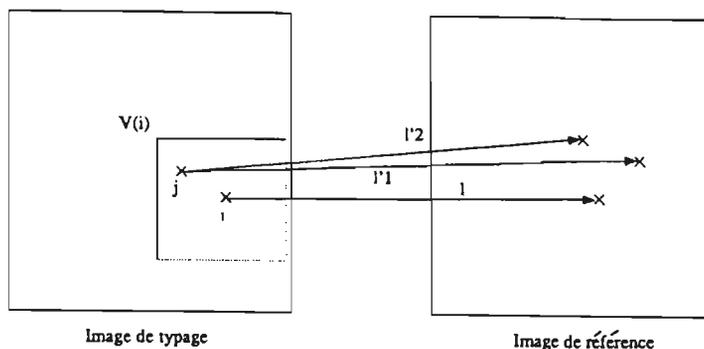


Figure II.14 : Représentation de la mise en correspondance

On s'intéresse en chaque point j voisin de i , aux étiquettes l' proches de l . Plus leur probabilité est faible plus $q_i^k(l)$ est faible.

Récurrence sur les probabilités

$$\hat{p}_i^{k+1}(l) = \hat{p}_i^k(l) * [A + B * q_i^k(l)]$$

- A étant le facteur de régularisation, évite les probabilités nulles (fixé à 0.0025).
- B facteur de rapidité de mise à jour (fixé à 2.5).

$$\hat{p}_i^{k+1}(l^*) = \hat{p}_i^k(l^*)$$

Les probabilités sont normalisées :

$$\hat{p}_i^{k+1}(l) = \frac{\hat{p}_i^{k+1}(l)}{\sum_{l'} \hat{p}_i^{k+1}(l')}$$

Comme dans la fonction d'interaction avec le voisinage on ne défavorise pas explicitement les appariements lorsque l'on trouve des appariements incompatibles dans le voisinage, nous avons fixé un seuil d'acceptation de l'appariement. Les points qui ont une probabilité d'appariement supérieure à 0,7 sont considérés comme appariés.

Arrêt On fixe le nombre d'itérations à 4. Il n'est pas nécessaire d'attendre une stabilisation du nombre de points recalés. On obtient suffisamment de points mis en correspondance (voir images II.15 II.16 II.17 II.18).

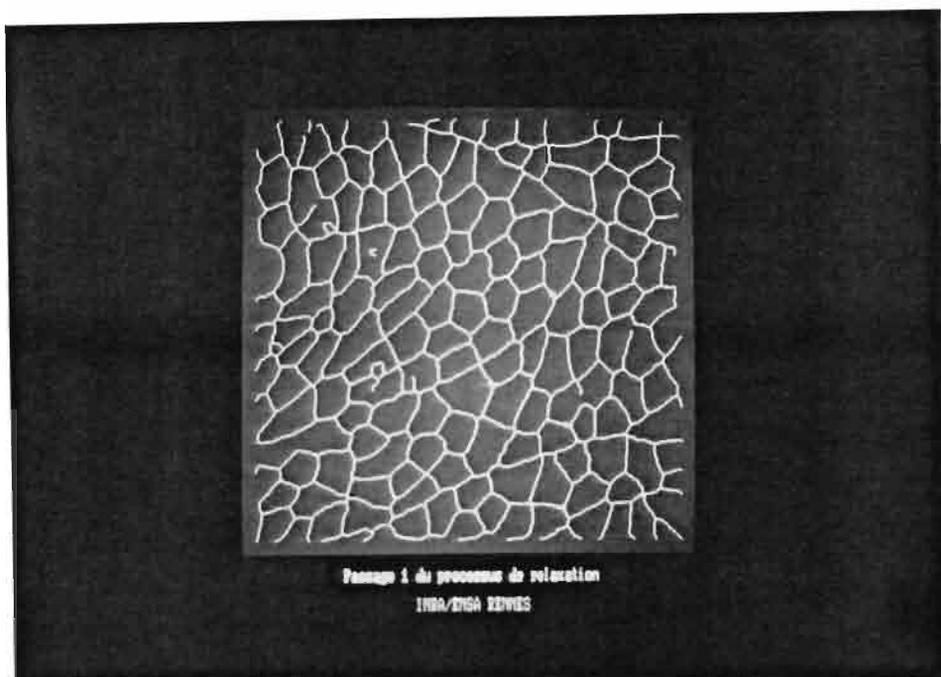


Figure II.15 : Couples d'amers appariés après une itération en surimpression sur l'image à recaler (les segments violet rejoignent les couples d'amers appariés)



Figure II.16 : Couples d'amers appariés après deux itérations en surimpression sur l'image à recaler (les segments violet rejoignent les couples d'amers appariés)

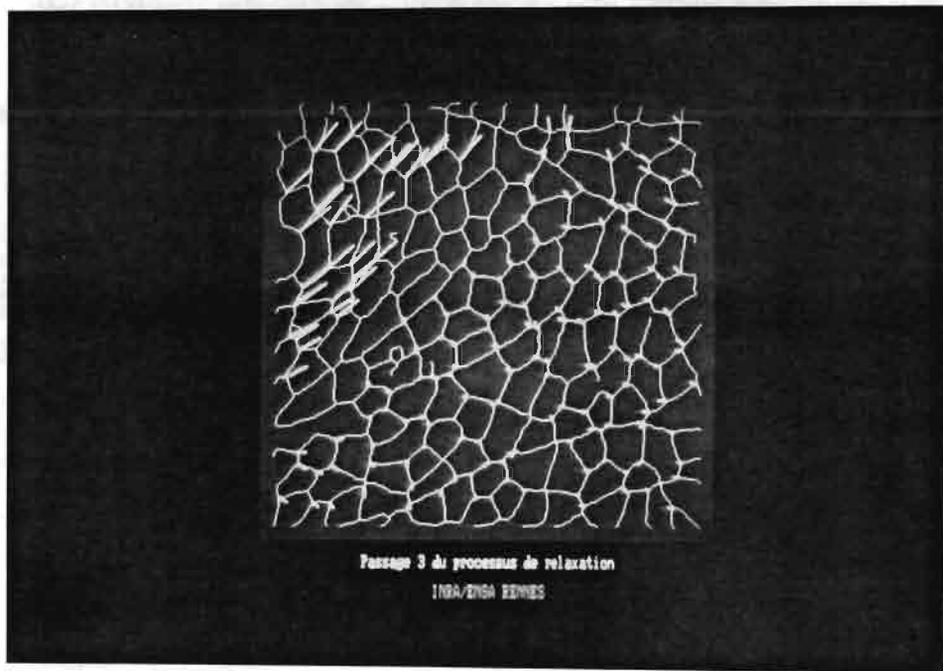


Figure II.17 : Couples d'amers appariés après trois itérations en surimpression sur l'image à recalier (les segments violet rejoignent les couples d'amers appariés)

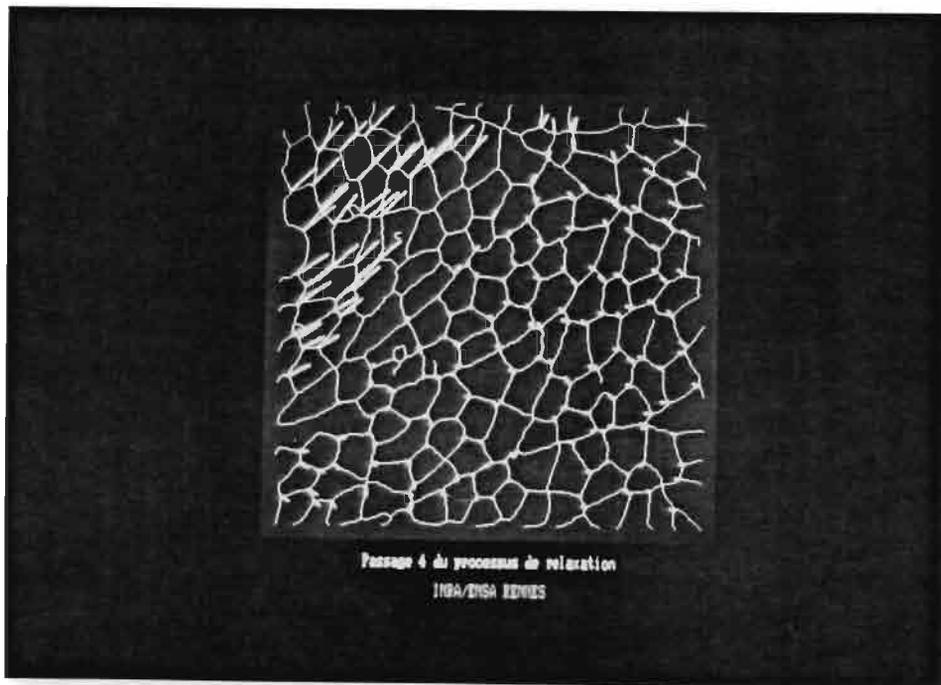


Figure II.18 : Couples d'amers appariés après quatre itérations en surimpression sur l'image à recalier (les segments violet rejoignent les couples d'amers appariés)

II.3.3 Validation de la procédure de mise en correspondance

L'utilisation des décisions prises dans le voisinage pour statuer sur le score d'appariement d'une intersection nous paraît bien adapté à notre problème. De cette manière, des scores initiaux élevés (obtenus par le critère de similarité) correspondant à des appariements apparemment très bons, sont très rapidement diminués quand on ne trouve pas d'appariement dans la même direction dans le voisinage de l'intersection. A l'inverse, des scores initialement faibles sont très vite relevés lorsque l'on rencontre beaucoup de décisions compatibles dans le voisinage.

Dans notre stratégie, nous spéculons sur le fait qu'un appariement aberrant a une direction qui ne se retrouve jamais dans le voisinage. Pour obtenir une décision suffisamment robuste, nous calculons la taille de la fenêtre de recherche des intersections candidates à l'appariement (sur la coloration à recalcer) et des intersections appartenant au voisinage considéré (sur la coloration de référence) de telle manière qu'en moyenne la fenêtre englobe suffisamment d'intersections pour que la décision soit robuste (nous avons fixé empiriquement ce nombre à 14 intersections). Ce calcul est effectué sur la coloration de référence qui contient des intersections validées par l'utilisateur donc fiables.

Les inconvénients de notre approche sont les suivants :

- la détermination des paramètres de contrôle (nombre d'itérations du processus, seuil d'acceptation d'un appariement, paramètres A et B de mise à jour des probabilités) est assez fastidieuse et reste très empirique.
- sur les couples d'images recalées, on constate tout au plus une (voire deux) distorsion locale importante due au microtome à congélation ou à l'apparition sur l'une des deux images d'une cellule adipeuse (voir figure II.18). La déformation à corriger est donc la combinaison d'une translation-rotation et d'une distorsion locale qui peut être prise en compte par un polynôme global de degré 3. La recherche des appariements d'une intersection se fait en moyenne sur des fenêtres de taille 60×60 . Il est parfois possible que l'on ne trouve pas de points d'amers dans les zones frontières entre la région qui a subi une distorsion locale et celle affectée seulement d'une translation-rotation. En effet, le processus de relaxation ne permet pas d'"interpoler" le mouvement dans les régions frontières. Il choisira soit l'un des deux mouvements, soit rien du tout à cause du seuil d'acceptation fixé sur la probabilité du meilleur appariement. L'image de la figure II.18 illustre cette remarque. On constate une forte distorsion locale dans le coin supérieur gauche de l'image, des distorsions locales faibles au centre de l'image. Entre ces deux régions, le processus n'a pas réussi à trouver de point. C'est la limitation imposée par l'hypothèse de continuité du mouvement dans le voisinage. Dans notre application, cet inconvénient n'est pas gênant car on trouve suffisamment de points dans chaque région de l'image. Le modèle po-

lynômial, par interpolation, permet ensuite d'estimer la déformation dans les zones frontières.

- il arrive que deux intersections de l'image à recaler s'apparient avec une même intersection dans l'image de référence. Dans ce cas, nous levons l'ambiguïté en gardant l'appariement qui a le meilleur score.
- l'algorithme de relaxation génère trop de points d'amers difficiles à valider interactivement. Nous gardons donc une centaine de points répartis uniformément sur l'image.

En conclusion, nous présentons trois tableaux de résultats d'une validation effectuée sur une dizaine d'images. Le calcul des points d'amers se fait en moyenne en 30 minutes ¹ sur un jeu de 4 images à recaler.

Coloration de référence	Nombre moyen de points multiples	Ecart-type	Nombre d'images
AZO	325	57	10

Coloration de typage	Nombre moyen de points multiples	Ecart-type	Nombre d'images
ATP 4,10	314	47	9
ATP 4,35	224	79	10
ATP 10,4	264	47	7
GLY	377	50	9

Coloration de typage	Pourcentage de points recalés	Ecart type	Pourcentage de points mal recalés	Ecart type	Nombre d'images
ATP 4,10	74,9	13,5	1,2	0,9	9
ATP 4,35	58,8	16,1	2,5	2,4	10
ATP 10,4	69,9	15,6	1,7	1,9	7
GLY	33,4	22,8	1,3	1,5	9

Dans le premier tableau, on donne le nombre moyen d'intersections présentes sur la coloration de référence.

Dans le second tableau, on remarque que le nombre d'intersections présentes sur les images de typage est en moyenne moins élevé que sur l'image de référence. Ceci

¹sur une Sun 3/260

est du au fait que toutes les branches du réseau inter-fibres ne sont pas détectées. Par contre, sur la coloration glycogène, le nombre moyen d'intersections est plus élevé. Cette coloration est très bruitée, il y a donc beaucoup d'intersections aberrantes détectées.

Dans le troisième tableau, on peut juger de la qualité de l'algorithme d'extraction des intersections sur les images à recalcr et de l'algorithme de relaxation :

- **Sur les colorations de typage** : on réussit à apparier entre 60 et 75 % des intersections détectées avec un pourcentage d'erreur assez faible (de 1 à 3 %).
- **Sur la coloration glycogène** : le résultat est moins bon (33 %) mais l'algorithme d'appariement par relaxation joue son rôle de garde-fou et écarte 65 % des intersections qui sont certainement majoritairement aberrantes.

Nous terminerons ce chapitre en proposant deux pistes d'amélioration possibles du modèle de relaxation :

- Pondérer l'influence d'un voisin dans la fonction de mise à jour de la probabilité d'appariement en fonction de sa distance à l'intersection traitée car la fenêtre de recherche est relativement importante.
- Défavoriser des probabilités d'appariement lorsque l'on trouve dans le voisinage un appariement incompatible de forte probabilité pour diminuer le nombre de faux appariements détectés.

Chapitre III

Conclusion sur le recalage des colorations

Nous avons décrit dans cette partie une transformation polynômiale qui intègre de manière suffisante les déformations inter-colorations et une méthode de recherche automatique des points d'amers. Nous enchaînons donc ces deux étapes pour résoudre le problème du suivi des fibres de la coloration de référence sur les colorations à recalcr. L'utilisateur peut intervenir pour valider les points amers trouvés automatiquement. Ce contrôle humain supprime les derniers risques d'erreurs engendrés par la solution automatique.

L'utilisation d'un polynôme de degré 3 et l'obtention (grâce à la procédure automatique) d'un grand nombre de points d'amers uniformément répartis sur l'image nous permet d'améliorer sensiblement les résultats obtenus avec une saisie manuelle des points (15 en moyenne) sur un polynôme de degré 2. Nous illustrons cette remarque en présentant le tableau suivant :

Résultats obtenus par enchaînement du calcul automatique des amers d'une validation interactive et du calcul du modèle polynômial de degré 3

Coloration	Moyenne	Ecart-type	Nombre d'images
ATP 4,10	0,8%	1,0	9
ATP 4,35	1,0%	0,9	10
ATP 10,4	1,1%	0,9	7
GLY	1,6%	1,3	9

Ce tableau est à comparer avec celui présenté dans la sous-section I.3.3 pour le polynôme de degré 2 estimé par 15 points d'amers saisis interactivement. Les moyennes des erreurs diminuent : on passe de

- 2% à 0,8% pour la coloration ATP 4,10
- 1,7% à 1% pour la coloration ATP 4,35
- 1,9% à 1,1% pour la coloration ATP 4,10
- 1,9% à 1,6% pour la coloration glycogène

Les erreurs d'affectation sont donc devenues résiduelles.

Troisième Partie

Présentation du logiciel RACINE

Chapitre Premier

Interface utilisateur

Pour traiter une expérimentation de n jeux de coupes sériées, nous avons conçu un ensemble de 8 modules correspondant aux 8 étapes du travail à accomplir :

- (1) acquisition des images
- (2) extraction des informations structurelles
- (3) calcul des paramètres structurels
- (4) mise en correspondance d'images
- (5) typage interactif des fibres
- (6) calibration des mesures
- (7) édition des paramètres calculés
- (8) suppression de jeux de coupes et des fichiers qui lui ont été associés

Les traitements opérés sur les images au cours des étapes donnent lieu à la création d'images ou de données intermédiaires que le logiciel gère de manière transparente dans une structure de données stockée sur disque. La structure de données et les modules sont décrits dans les deux sections suivantes de ce chapitre.

I.1 Structure de données associée à une expérimentation

On distingue trois types d'information dans la structure de données

- Les informations servant à la gestion des jeux de coupes

- Les informations calculées sur les images
- Les images

Une description exhaustive des fichiers est donnée dans [Buche89b], nous ne reproduisons ici que quelques éléments expliquant l'utilité des informations contenues dans les fichiers (sous-section I.1.1) et leur lieu de stockage (sous-section I.1.2).

I.1.1 Fichiers

Les informations de gestion Elles sont stockées dans deux fichiers :

- *le fichier JEUX* : Ce fichier unique contient dans chaque enregistrement les informations caractérisant un jeu de coupes sériées. C'est le fichier qui permet de gérer de manière transparente les images et les données. Lorsque l'utilisateur demande au logiciel de lancer un traitement, il a la possibilité de le lancer sur l'ensemble des jeux répertoriés dans le fichier JEUX ou sur un sous-ensemble qu'il détermine explicitement. L'utilisateur n'a alors plus besoin de connaître les noms des fichiers contenant les images des colorations composant un jeu. Les données générées par le traitement d'images sont également gérées de manière transparente à partir du fichier JEUX car les fichiers de données reprennent le nom du fichier image, seule l'extension change. Par exemple :
 - *azo*.ref* désigne le fichier image contenant la coloration de référence.
 - *azo*.don* désigne le fichier contenant les paramètres morphologiques et photométriques concernant le jeu.
- *le fichier CALIBRATION* : Il contient les informations permettant d'effectuer la conversion pixel \rightarrow μm .

Les images Dans un jeu de colorations, on peut être amené à numériser 3 types d'images :

- Les colorations de référence (vert lumière, azorubine, ...) permettent d'extraire le réseau des fibres : elles sont stockées avec le suffixe *.ref* pour les identifier.
- Les colorations de typage (ATPase) permettent de retrouver le type des fibres (fibres lentes ou rapides classées en 4 groupes : I, IIA, IIB, IIC) : elles sont stockées avec le suffixe *.typ*
- Les colorations de type paramètre (exemple : glycogène) permettent d'étudier un paramètre mesuré dans la fibre (ex: l'acidification) : elles sont stockées avec le suffixe *.par*

Les informations calculées Elles sont stockées dans trois types de fichiers :

- *les fichiers de type DONNEES* : Ces fichiers servent à stocker les paramètres calculés par RACINE sur les différentes images composant le jeu. Chaque enregistrement contient :
 - nombre de fibres extraites
 - le tableau des mesures calculées pour chaque fibre :
 - * numéro de la fibre
 - * surface de la fibre (en nombre de pixels)
 - * périmètre de la fibre (en nombre de pixels)
 - * compacité de la fibre ¹ (sans dimension)
 - * tableau des luminances
 - * type de la fibre obtenu par combinaison des colorations de typage
 - * tableau des luminances mesurées sur chaque coloration de type paramètre
- *les fichiers de type AMER* : Ce fichier contient pour un couple d'images à mettre en correspondance la liste des points amers calculés automatiquement puis validés. Ces informations sont stockées sur disque car elles sont générées par le module de recherche automatique d'amers qui s'exécute sans opérateur. Elles sont ensuite reprises interactivement pour être validées et pour estimer la déformation polynômiale.
- *les fichiers de type BARYCENTRE* : Ce fichier contient pour un couple d'images à mettre en correspondance la liste des barycentres recalés par le modèle de mise en correspondance. Ces informations sont stockées sur disque car elles sont initialisées par le module de calcul des paramètres morphologiques puis complétées après estimation du modèle polynômial. Ces données sont en plus une source d'information exploitable pour analyser spatialement les distributions des fibres typées.

I.1.2 Lieux de stockage

A la connexion, RACINE demande le numéro de l'expérimentation sur laquelle l'utilisateur veut travailler. Si le répertoire EXPEno existe dans le répertoire d'accueil, RACINE s'y positionne sinon il demande s'il s'agit de la création d'une nouvelle expérimentation. Si la réponse est affirmative, RACINE crée les répertoires dans lesquels sera stockée la structure de données de l'expérimentation. Plus précisément, RACINE

¹ rapport périmètre au carré sur la surface

crée le répertoire nommé `EXPE xx` ² contenant l'ensemble de l'expérimentation. Puis, sous ce nouveau répertoire, il crée les répertoires suivants:

- **numérisation** : ce répertoire contient l'ensemble des images numérisées
- **données** : ce répertoire contient l'ensemble des fichiers de gestion et de données extraites des images
- **extraction** : ce répertoire contient l'ensemble des fichiers contenant les images calculées.

Un exemple d'organisation d'une expérimentation est donnée en figure I.1.

I.2 Modules

Le découpage en modules de l'application a été fait en respectant deux critères :

- un découpage fonctionnel : acquisition, extraction de réseau, mise en correspondance des images et typage
- un découpage des modules fonctionnels en modules de calcul sans intervention opérateur et en modules interagissant avec l'opérateur par l'intermédiaire d'outils graphiques (validations des étapes de calcul automatique).

I.2.1 Acquisition

Le rôle de ce module est de gérer l'acquisition des images et des informations relatives à ces images. Les images sont numérisées par jeu. Un jeu est composé d'une coloration de référence qui est numérisée en premier, puis on numérise les colorations qui lui sont associées. Le problème consiste à retrouver le même champ sur ces images. Dans la version actuelle, l'opérateur trace dans les plans graphiques avec un curseur les grandes structures (tissu adipeux) présentes sur la coloration de référence. Cette opération sera améliorée par la suite en la remplaçant par un seuillage interactif qui est moins astreignant. Ensuite il numérise les autres colorations du jeu en essayant de les recalculer au mieux sur les grandes structures repérées sur la coloration de référence en utilisant la procédure utilisée par Enckel (cf introduction générale). De cette manière il effectue un premier recalage grossier. L'algorithme d'acquisition est le suivant :

² xx est le numéro de l'expérience

L'Organisation des données concernant une expérimentation
gérée par RACINE

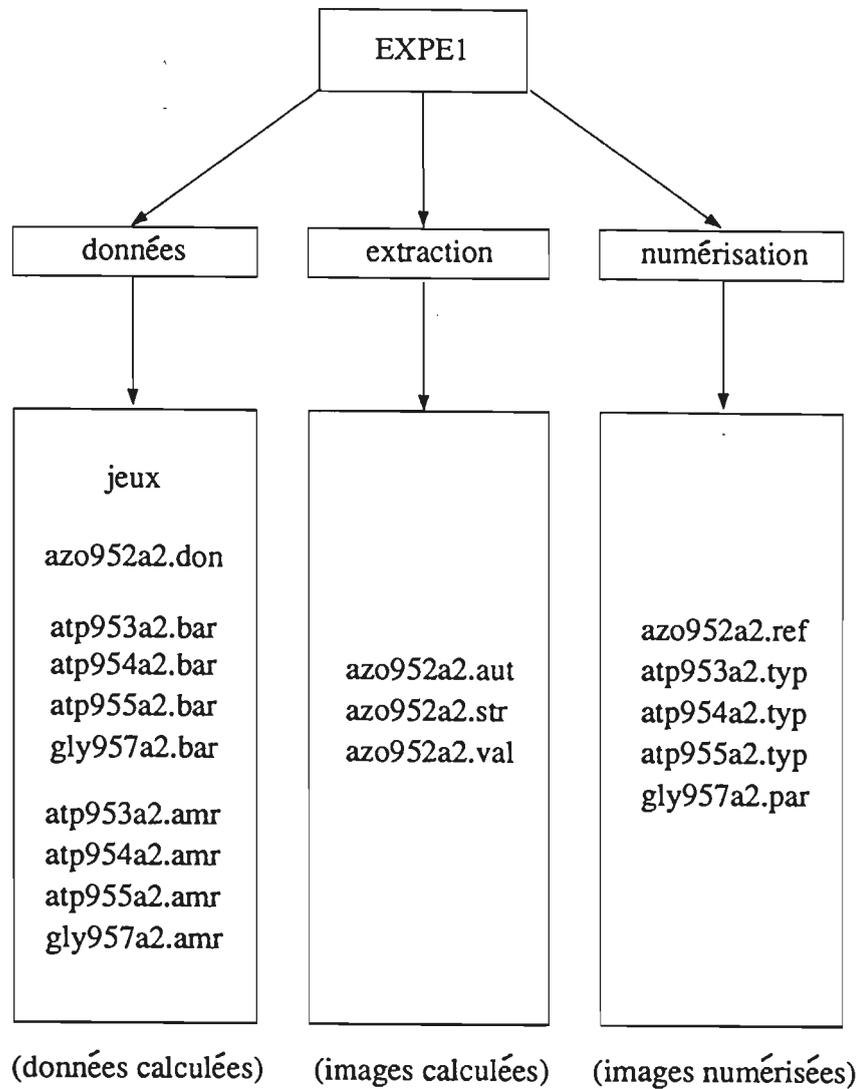


Figure I.1 : L'organisation des données sous RACINE

Répéter (* pour chaque jeu *)
 Saisir les infos caractérisant un jeu (cf fichier JEUX)
 Assister la numérisation de la coloration de référence
 Stocker l'image sur disque
 Tracer avec le curseur des grandes structures dans un plan graphique
Pour chaque coloration
 Numériser l'image
 Stocker l'image sur disque
FinPour
 Enregistrer les infos concernant le jeu de colorations

La numérisation d'un jeu est toujours faite en une seule séance. Mais comme le nombre de jeux à numériser pour une expérimentation peut être important, le programme prévoit que la numérisation peut être effectuée en plusieurs séances. Après cette étape, l'utilisateur peut lancer l'étape d'extraction du réseau inter-fibres sur la coloration de référence.

I.2.2 Extraction des informations structurelles

Ce module permet l'extraction des informations structurelles présentes sur la coloration de référence en deux étapes :

- **extraction automatique sur 1 à n colorations de référence :**

L'utilisateur sélectionne³ dans la liste des images de référence celles qui doivent subir la procédure d'extraction. Cette liste est utilisée en entrée de l'algorithme d'extraction qui génère dans le répertoire *extraction* les images résultats, ie :

- *.str (grandes structures du réseau inter-fibres)
- *.aut (squelette du réseau inter-fibres)

Cette procédure, complètement automatique, est exécutée sans opérateur.

- **correction interactive du réseau extrait automatiquement :** A partir des images *.str et *.aut, il est possible d'ajouter ou de supprimer des branches et de remplir des régions d'inter-fibres épais mal détectées. Le résultat de la correction est stocké dans le fichier *.val dans le répertoire *extraction*

A l'issue de cette étape, l'utilisateur dispose d'une image contenant le réseau inter-fibres sur laquelle il peut demander le calcul des paramètres structurels.

³par défaut, toutes les images contenues dans le fichier JEUX sont traitées

I.2.3 Calcul des paramètres structurels

Lorsque le réseau est extrait et stocké dans le fichier **.val*, on peut lancer l'algorithme de calcul des paramètres structurels :

- étiquetage des fibres
- surface des fibres en nombre de pixels
- périmètre des fibres en nombre de pixels
- compacité des fibres

A la fin de cette procédure de calcul exécutée sans opérateur, les résultats sont stockés dans le fichier **.don*. Les barycentres des fibres de la coloration de référence sont stockés dans les fichiers de type **.bar*.

I.2.4 Mise en correspondance d'images

Ce module permet de retrouver la position du barycentre d'une fibre délimitée sur la coloration de référence dans les autres colorations du jeu. Pour cela, on procède en deux étapes :

- (1) une procédure automatique d'extraction de points mis en correspondance sur les deux images
- (2) une procédure semi-automatique interactive de correction éventuelle de ces points et d'estimation de la déformation entre les deux images à recalcr

La procédure automatique d'extraction de points d'amers

L'utilisateur choisit la liste des jeux qu'il veut recalcr.

Partant de cette liste, le programme enchaîne le calcul automatique des points amers. Cette procédure de calcul, entièrement automatique, s'exécute sans opérateur.

Le fichier **.amr* est créé par cette procédure.

La procédure semi-automatique interactive

Après l'étape automatique, l'utilisateur valide les points calculés automatiquement et au besoin en ajoute d'autres. A partir de ces points le programme *rec_correction.c* calcule la déformation polynômiale qui permet de passer au mieux d'une image à

l'autre. La connaissance de cette déformation permet alors de calculer les coordonnées des barycentres des fibres sur la coloration. Par ailleurs, il est possible d'utiliser ce module sans passer par le calcul automatique des amers. Dans ce cas, le degré du polynôme est fonction du nombre de points d'amers saisis : nous calculons un polynôme de degré 3 lorsque le nombre de points d'amers⁴ est supérieur à 18. Pour un nombre de points compris entre 10 et 17, nous calculons un polynôme de degré 2. Pour un nombre de points compris entre 4 et 9, nous calculons un polynôme de degré 1.

En sortie, les fichiers **.bar* sont mis à jour avec les valeurs des barycentres recalés. Les fichiers **.amr* sont également mis à jour. Les luminances moyennes sont calculées dans une fenêtre autour des barycentres recalés. Ces luminances sont stockées dans le fichier **.don*.

1.2.5 Typage interactif des fibres

Procédure de typage A cette étape, on dispose des barycentres recalés dans les colorations de typage et de la luminance observée autour de chacun des barycentres. Il reste à déterminer les types de fibres en fonction de ces luminances. Ce travail sort du cadre de cette thèse dont les objectifs sont de recalculer les informations concernant une même fibre sur les différentes colorations du jeu. Néanmoins, nous avons conçu un premier outil permettant de typer les fibres à partir des luminances calculées. Pour cela :

- (1) sur chaque coloration de typage (3 au max) : l'utilisateur positionne interactivement 2 seuils de luminance pour classer les fibres en 3 groupes (resp. 1, 2, 3 pour noir, gris, blanc) par manipulation de LUT de fausse couleur sur la coloration de typage. Ensuite l'algorithme affiche au barycentre de la fibre la couleur de sa classe. L'utilisateur peut alors modifier la classe d'appartenance d'une fibre avec le curseur (voir les images I.2 et I.3).
- (2) En final, on affiche, sur 4 cadrans 256×256 par sous-échantillonnage (voir figure I.5), les 4 images (la référence et les 3 typages). Le type associé en final à la fibre est affiché au barycentre de la coloration de référence. Il est calculé selon la règle explicitée dans le paragraphe suivant.

Règle de typage en fonction des 3 ATP Le programme connaît à cette étape le type de la fibre calculé dans chaque coloration ATP. Le typage a été effectué de la façon suivante :

- 1 - noir

⁴2 fois le nombre de coefficients à estimer

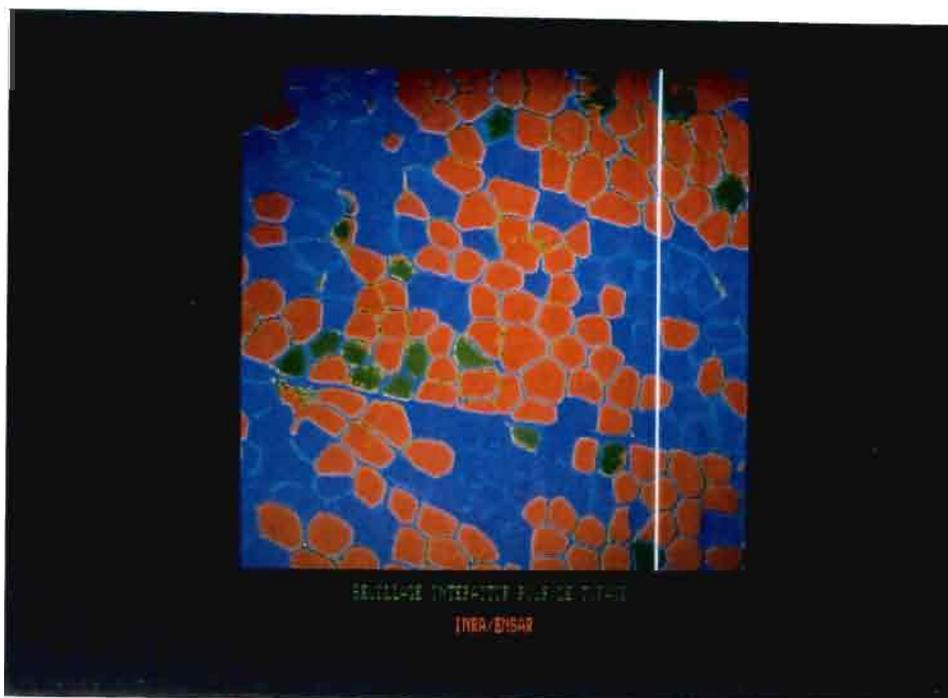


Figure I.2 : Choix de seuils de séparation des types de fibres sur une coloration de typage

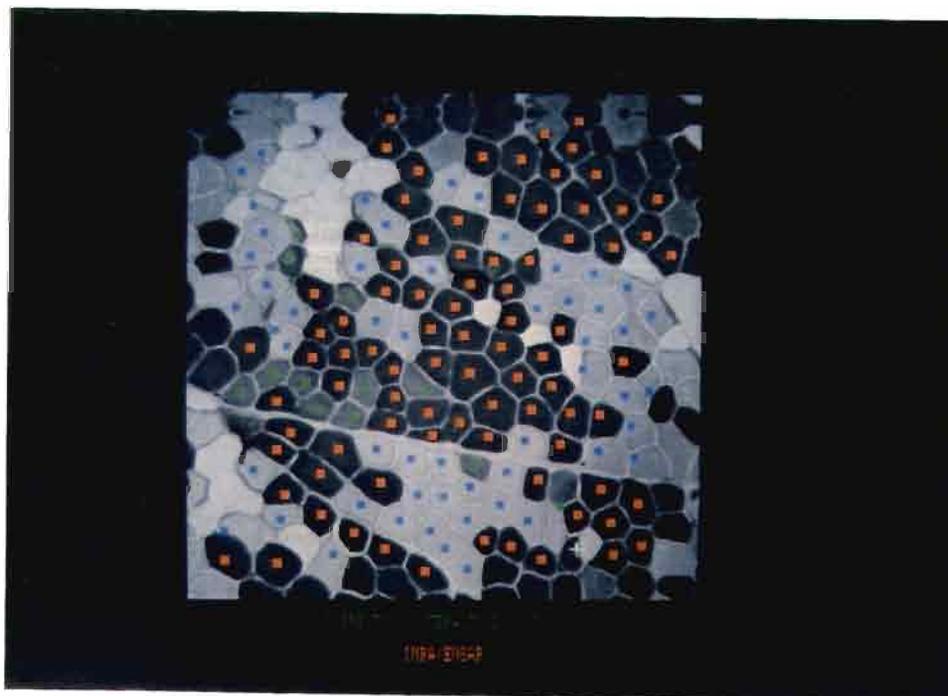


Figure I.3 : Correction des fibres mal typées par l'opération de seuillage

ATP TYPE	4.10	4.35	10.4
I			
IIA			
IIB			
IIC	 ↓ a 	 ↓ a 	 ↓ a 

Figure I.4 : Tableau des intensités (noir, gris, blanc) des 4 types de fibres sur chaque ATP. (a) les fibres de type IIC varient du gris au noir sur les trois colorations

- 2 - gris
- 3 - blanc

Le tableau I.4 donnent les intensités de colorations des 4 types de fibres qui intéressent le biologiste (I, IIA, IIB, IIC) dans les 3 ATP.

Nous avons combiné ces informations pour déterminer sans ambiguïté les 4 types:

- (1) on affecte le type I aux fibres classées 3 (ie blanches) dans l'ATPase 10,4
- (2) en parallèle, on affecte le type IIA aux fibres classées 3 (ie blanches) dans l'ATPase 4,35
- (3) puis, après ces 2 premières étapes, parmi les fibres restant à classer, on affecte le type IIB aux fibres classées 3 (ie blanches) dans l'ATPase 4,10

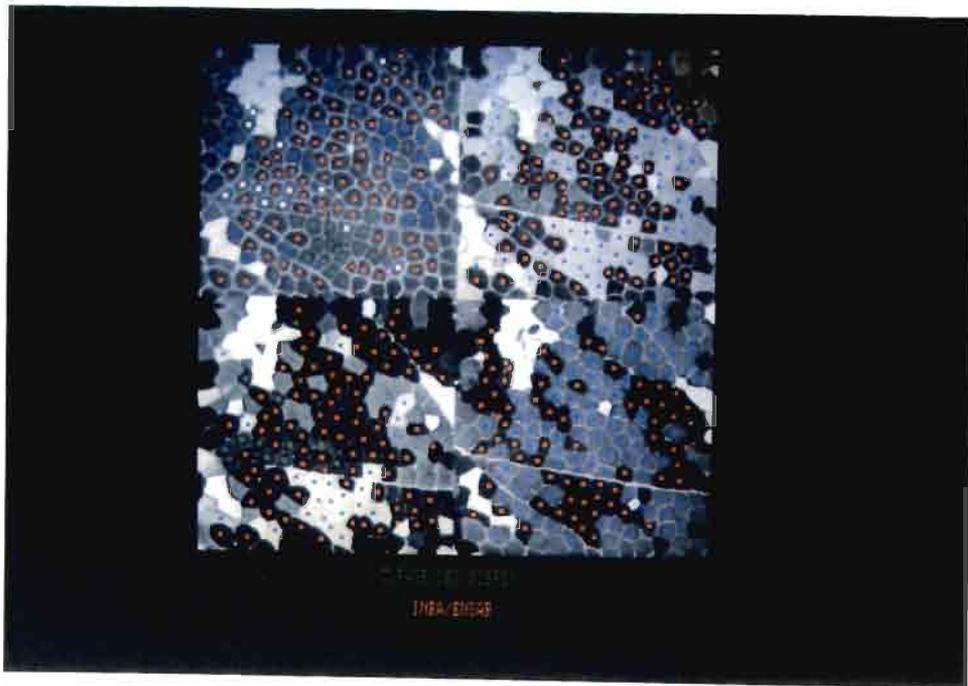


Figure I.5 : L'écran 512X512 découpé en 4 sous-images : la coloration de référence avec au barycentre des fibres leur type en couleur et les trois colorations de typage dans les 3 autres cadrans afin de faciliter le contrôle du type calculé

(4) enfin, les non-classés sont alors affectés au type IIC

Cet outil est une première approche du problème. Il nous paraît souhaitable de poursuivre l'étude en l'abordant comme un problème de discrimination à partir d'un ensemble d'apprentissage obtenu avec notre outil puis de réaliser un classement des nouveaux échantillons dans les classe générées par la procédure de discrimination.

I.2.6 Calibration des mesures

Ce module permet de rentrer des grossissements différents dans le système et est utilisé pour convertir les données calculées sur les images (exprimées en pixels) en μm .

Pour cela, on opère de la façon suivante, le repère est un segment :

- on guide l'utilisateur dans la numérisation du repère (gestion transparente pour l'utilisateur des commandes de numérisation)
- on lui demande de cliquer avec le curseur sur les deux extrémités du segment

- le programme calcule le nombre de pixels les séparant (maximum des différences des x et des y)
- le programme demande à l'utilisateur la valeur correspondante en μm

Sur les cartes image à pixels rectangulaires, cette calibration est faite horizontalement et verticalement.

I.2.7 Edition des paramètres calculés

Ce module permet l'impression des informations contenues dans les fichiers **.don* sous forme désirée par le biologiste : pour chaque type de fibre déterminé soit à partir d'une coloration de typage (on ne peut alors distinguer que trois types de fibres nommées "noires", "grises" et "blanches"), soit à partir de la combinaison des trois colorations de typage (on peut alors distinguer 4 types de fibres nommées 1, 2A, 2B et 2C), on édite :

- la surface relative par type de fibre exprimée en μm^2 et en pourcentage
- le périmètre relatif par type de fibre exprimé en μm et en pourcentage
- le nombre de fibres par type exprimé en valeur absolue et en pourcentage
- la surface moyenne, maximum et minimum par type de fibre exprimée en μm^2
- le périmètre moyen, maximum et minimum par type de fibre exprimé en μm
- le nombre de fibres analysées sur le champ numérisé
- la surface analysée exprimée en μm

I.2.8 Suppression de jeux de coupes

Pour rendre la gestion des fichiers transparente, l'utilisateur n'a pas besoin de connaître les fichiers intermédiaires associés à un jeu. Le module de suppression prend en charge automatiquement la destruction de ces fichiers sur disque.

Chapitre II

Caractéristiques techniques du logiciel RACINE

II.1 Organisation des sources

RACINE est un logiciel développé sous UNIX en langage C. Sa taille est d'environ 12500 lignes de programme source. Le logiciel est constitué d'un répertoire principal et de 7 sous-répertoires correspondant aux 8 modules fonctionnels évoqués dans le chapitre précédent :

- un module d'acquisition des images (acquisition.c et le répertoire acq)
- un module d'extraction des informations structurales (extraction.c et le répertoire ext)
- un module de calcul des paramètres structurels (calcul.c et le répertoire cal)
- un module de mise en correspondance d'images (recalage.c et le répertoire rec)
- un module de typage des fibres (typage.c et le répertoire typ)
- un module d'édition des paramètres calculés par RACINE (edition.c)
- un module de calibration des mesures (configuration.c)
- un module de suppression de jeux (suppression.c)

Les modules sont stockés dans les répertoires précités (acq, ext, cal, rec, typ et edi) plus le répertoire lib qui contient des utilitaires appelés dans plusieurs modules et stockés dans la bibliothèque libracine.a. L'organisation des modules est présentée sur la figure II.1.

Le répertoire principal contient l'interpréteur des commandes de RACINE, `racine.c`, compilé avec les fichiers `acquisition.c`, `suppression.c`, `calcul.c`, `recalage.c`, `edition.c` et `configuration.c`. Le rôle de ce module principal est de :

- lire les commandes de l'utilisateur
- gérer la structure de données de RACINE notamment le fichier **jeux** qui contient les informations de gestion des jeux de colorations traitées
- transmettre aux modules de l'application les paramètres fichiers dont ils ont besoin (images ou données)

Ce module principal appelle chaque module en créant un processus fils (en effectuant un **fork**). Le processus père (ie le module principal `racine.c`) dans la version actuelle se bloque en `WAIT` (il attend le retour du fils). Le processus fils effectue un **exec** qui demande l'exécution du module (exemple : extraction de réseau). L'avantage de cette méthode est que les modules de RACINE sont des exécutables indépendants que l'on peut tester sans passer par l'interpréteur de commandes.

Les schémas fonctionnels des appels de modules et de l'utilisation des fichiers de la structure de données de RACINE sont donnés dans l'annexe A.

II.2 Portabilité et ouverture

RACINE a été développé sur une station Sun 3/260 équipée d'une périphérie image Inforop. Il est destiné à tourner de manière opérationnelle sur un Sun 4/370 équipé d'une carte Matrox MVP/VME dans un laboratoire de l'Inra. Dans sa version d'origine, RACINE est lié à l'utilisation du curseur Sun sous Sunview¹ et à la périphérie Inforop sous Trilib². Pour faciliter les opérations de portage, les fonctions de bas niveau d'accès à la carte image (transfert mémoire image-mémoire centrale, pilotage de la carte image à partir de l'ordinateur hôte) ont été réécrites au format du progiciel Visilog³. Ce progiciel a été choisi par l'Inra comme boîte à outils de base pour le traitement d'images. Cette compatibilité nous permet d'installer notre logiciel sur une machine UNIX équipée d'une périphérie image supportant Visilog (cartes séries 100, 150 et 151 de Imaging Technology, cartes VIP 1024, MVP/VME et MVP/NP de Matrox, carte Tridyn d'Inforop, ...).

Nous stockons nos images au format Visilog. Il est donc possible de développer des traitements d'images complémentaires à partir de la boîte à outils de Visilog sur toutes les images que génère RACINE.

¹Progiciel Sun

²Progiciel Inforop

³commercialisé par la société Noesis

Organisation des modules constituant le logiciel RACINE

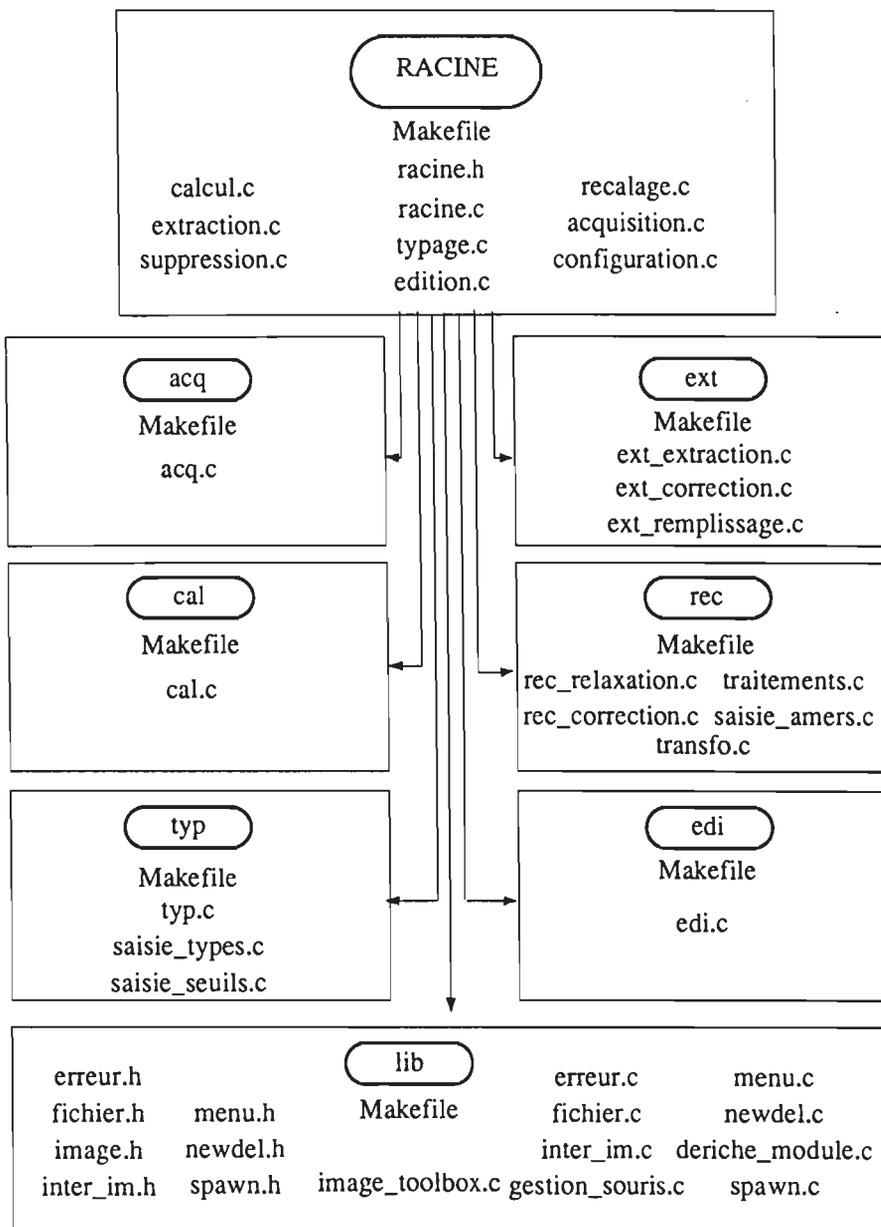


Figure II.1 : Organisation de la structure de développement du logiciel RACINE

Nos fichiers de données sont stockés au format ASCII, il est donc aisé de les traiter sous des progiciels statistiques.

II.3 Performances

Nous donnons les temps et la capacité disque nécessaires pour traiter un jeu de coupes sériées qui comprend une coloration de référence, trois colorations de typage et une coloration paramètre. Ces performances ont été évaluées sur un Sun 3/260 en mono-utilisateur.

- L'opération interactive de numérisation se fait en 20 minutes environ
- L'extraction automatique du réseau inter-fibres se fait en 8 minutes
- L'opération de validation interactive d'un réseau se fait en moyenne en 5 minutes.
- Le calcul automatique des amers se fait en 30 minutes sur un jeu de 4 images à recalcr
- L'opération de validation interactive des recalages par le modèle polynômial sur les 4 images se fait en moyenne en 15 minutes
- L'opération interactive de typage à partir de 3 colorations ATP se fait en moyenne en 10 minutes

Pour exploiter un jeu, le temps opérateur (resp. le temps calcul) est en moyenne de 50 minutes (resp. 38 minutes). L'espace disque nécessaire pour stocker les images d'un jeu de coupes est :

- Images brutes : $5 \times 0,25Mo = 1,25Mo$
- Images calculées : $3 \times 0,25Mo = 0,75Mo$
- Total : 2 Mo

Ces performances nous ont permis de mener une expérimentation sur 72 jeux de coupes sériées, soit environ un échantillon de 10000 fibres. RACINE permet donc de rendre l'histologie quantitative, fiable et précise car les informations sont calculées au niveau de la fibre. De plus, RACINE permet d'obtenir ces informations sur des échantillons de grande taille. Ce résultat est appréciable comparativement aux méthodes quantitatives manuelles présentées dans l'introduction dont l'ambition statistique est assez limitée. Parmi les méthodes quantitatives semi-automatiques, à

notre connaissance, seule la méthode de Henckel permet le typage des fibres. Le degré d'automatisation de notre logiciel est largement supérieur à celui développé par Henckel [Henckel89] au Danemark.

Son logiciel permet de traiter en moyenne un jeu constitué de deux coupes (une coloration de référence et une coloration de typage) par jour. Ce qui est largement inférieur aux performances de notre logiciel.

De plus, RACINE permet de réaliser un typage fonctionnel des fibres plus précis que le logiciel de Henckel grâce à l'utilisation simultanée de trois colorations ATPasiques (Henckel n'en utilise qu'une seule). Cette possibilité, plus lourde à mettre en oeuvre, est rendue possible grâce au degré d'automatisation important de RACINE. Le biologiste peut analyser les trois types fonctionnels de fibres habituellement utilisés (fibres I, IIA et IIB) et également le type intermédiaire IIC qui intéresse fortement le biologiste car il intervient pendant la croissance musculaire.

Chapitre III

Conclusion

Nous avons présenté dans cette partie le logiciel RACINE dans lequel nous avons intégré nos algorithmes de traitement et d'analyses d'images. Ce logiciel est complètement opérationnel. Nous nous sommes attachés à soigner l'interface utilisateur en mettant à sa disposition des outils graphiques pour intervenir sur les images (validation de l'individualisation des fibres et du recalage et du typage). Nous avons défini et implémenté une structure de données permettant une gestion ordonnée et transparente des images et des données manipulées. Nous avons assuré la portabilité du logiciel vis à vis des périphériques image en redéveloppant notre driver de base conformément aux spécifications du progiciel Visilog. Nous avons recherché l'automatisation maximale des tâches d'analyse d'images. L'utilisateur n'intervient que trois fois dans le processus de traitement :

- dans la validation du réseau des fibres délimitées automatiquement.
- dans la validation du recalage des images.
- dans l'étape de typage des fibres.

Ces performances permettent au biologiste de travailler plus rapidement, d'économiser l'immobilisation d'une personne¹ à plein temps sur un travail répétitif et peu motivant.

¹comme c'est le cas au Danemark

Quatrième Partie

Application de RACINE à l'étude des caractéristiques histologiques du muscle de porc

Introduction

Dans le cadre de cette thèse, deux applications nous ont permis de vérifier que le logiciel RACINE constitue réellement un outil qui ouvre des possibilités d'investigations nouvelles pour le biologiste. Pour cela, nous nous sommes fixés pour objectif d'une part de contrôler que les résultats générés par RACINE sont cohérents avec ceux présentés dans la bibliographie biologique et d'autre part, dans le cadre d'une expérimentation originale, de vérifier que les résultats obtenus par RACINE sont compatibles avec les autres types de mesure effectués.

Nous présentons une comparaison des caractéristiques histologiques entre les muscles Longissimus Dorsi (LD) et Semi-Spinalis (SS) (chapitre 1), puis une étude de la dégradation post-mortem du glycogène selon les types de fibres (chapitre 2) dans le muscle de porc .

Chapitre Premier

Etudes des caractéristiques histoenzymatiques des muscles LD et SS

I.1 Comparaison des proportions et surfaces des différents types de fibres sur les deux muscles

Cette étude a été réalisée sur 72 jeux de coupes sériées. Nous commentons dans ce paragraphe les résultats présentés dans le tableau suivant :

	type	LD	SS	Signification statistique
Proportion (% du nombre total de fibres)	I	9,03 ± 4,14	53,71 ± 7,86	***
	IIa	7,15 ± 1,12	26,91 ± 7,87	**
	IIb	79,49 ± 2,23	22,00 ± 8,32	***
surface (μm)	I	2671 ± 555	3671 ± 277	*
	IIa	2143 ± 233	3922 ± 655	**
	IIb	4654 ± 196	3659 ± 688	*
surface relative (% de la surface totale)	I	6,59 ± 3,19	51,45 ± 7,53	***
	IIa	4,18 ± 0,77	27,54 ± 8,05	**
	IIb	89,23 ± 2,83	21,00 ± 7,94	***

Les pourcentages des fibres I, IIa et IIB sont significativement différents entre les deux muscles. Le muscle LD est un muscle essentiellement composé de fibres de type IIB alors que le muscle SS est majoritairement composé de fibres de type I. Les trois types de fibres ont des aires de section transversale voisines dans le muscle SS. En revanche, les fibres IIB sont plus grosses que les fibres I et IIA dans le muscle LD. Ces résultats obtenus par analyse d'images sont cohérents lorsqu'on les compare à la

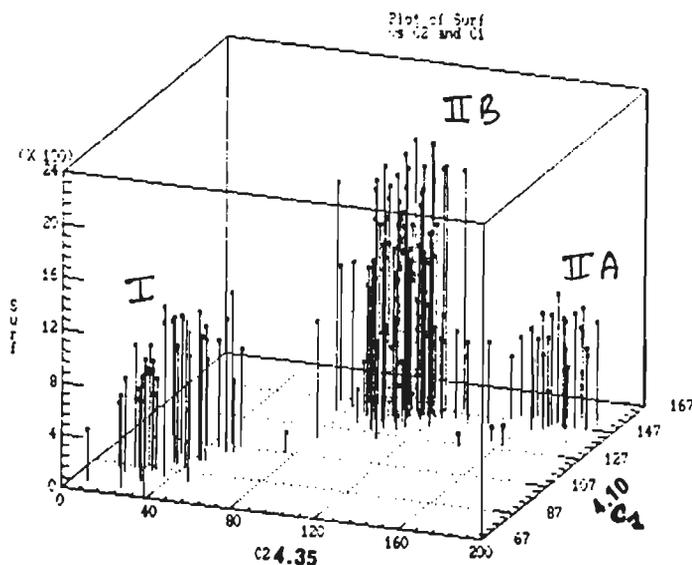


Figure I.1 : Représentation graphique de la surface des cellules en fonction des valeurs de luminance pour les colorations ATPasiques après préincubation à pH 4,35 et pH 4,10

bibliographie biologique [Fuzuki80], [Lefaucneur86].

I.2 Analyse du lien surface-type des fibres

Sur la figure I.1, on observe pour chaque cellule (matérialisée par un point) la valeur du paramètre surface en fonction des valeurs des paramètres colorations pH 4,35 et pH 4,10. On distingue nettement trois groupes de cellules qui correspondent aux trois types (I, IIA, IIB). Pour les cellules IIB, la surface est très variable. Pour les cellules I et IIA, la surface est peu élevée.

Le tableau suivant donne pour chaque type de fibre les valeurs¹ minimum, maximum, moyenne et l'écart-type pour le paramètre surface et confirme les commentaires que nous venons de faire à partir de la figure I.1.

	Nombre de cellules	Surface minimum	Surface maximum	Surface moyenne	Ecart-type
type I	47	136	1165	779	217
type II A	25	94	969	598	248
type II B	113	94	2028	1066	496

¹exprimées en nombre de pixels

Les résultats de l'analyse de variance à un facteur présentés dans le tableau suivant montrent que le paramètre type de fibres a un effet hautement significatif sur le paramètre surface. La variabilité de la surface est essentiellement expliquée par la variabilité du paramètre type de fibre (2968896,5), la variabilité résiduelle étant négligeable (171840).

	Degrés de liberté	Carré moyen	Valeur du F de Fisher	Signification
type	2	2968896,5	17,28	$p < 0.0001$
résidu	182	171840		

Une comparaison des surfaces deux à deux par type de fibre montrent que la surface des fibres de type IIB est très différente ($p \leq 0,0001$) de celle des fibres de type I et IIA. En revanche, les surfaces des fibres de type I et IIA ne sont différentes qu'au seuil de 7,8%. Le tableau suivant présente les comparaisons deux à deux des surfaces moyennes par type de fibre. ces calculs ont été réalisés sur le logiciel statistique SAS par une méthode de comparaison deux à deux des moyennes ajustées. Ces résultats sont en accord avec la bibliographie [Kiessling83], [Lefaucheur86], [Lefaucheur89].

	type I	type IIA	type IIB
type I	-	0,0784	0,0001
type IIA	-	-	0,0001
type IIB	-	-	-

I.3 Conclusion

Nous noterons donc que les résultats générés par RACINE sont compatibles avec la bibliographie. Jusqu'à présent, pour obtenir les pourcentages de fibres par type, le biologiste effectue un comptage manuel direct sur une seule coloration de typage. Parfois, pour obtenir un comptage plus précis, il individualise manuellement sur la coloration de référence les fibres en les dessinant sur un calque qu'il superpose ensuite sur une coloration de typage. La lourdeur de ces méthodes impliquent que les comptages sont effectués sur un faible nombre d'animaux et sur un faible nombre de fibres. L'apport décisif de RACINE pour ce type d'étude est de générer ces informations de manière automatique et précise.

Chapitre II

Etude de la dégradation post-mortem du glycogène selon les types de fibres

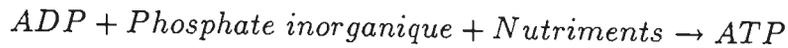
Dans ce chapitre, nous présentons une étude originale, réalisée avec RACINE, portant sur l'évolution post-mortem (après abattage) du glycogène. Ce type d'étude n'ayant jamais été présenté dans la bibliographie, notre objectif dans ce document est de montrer que les résultats générés par RACINE sont cohérents avec les autres types de mesure classiquement utilisés et de présenter le type d'études qu'il est possible de réaliser dans la lignée de ce premier travail. Une description approfondie de l'étude est présentée dans [Blandin89]. Nous présentons le phénomène biologique et l'intérêt économique sous-jacent (section II.1). Puis, nous décrivons les conditions de l'expérience (section II.2) et nous analysons les résultats obtenus (section II.3).

II.1 Phénomène biologique et son intérêt économique

Le phénomène auquel nous nous sommes intéressé est le mécanisme de régénération de l'ATP dans les fibres musculaires. L'ATP est une molécule qui contient la réserve d'énergie disponible dans les cellules vivantes. Sous l'action d'un enzyme, l'ATPase, l'ATP se transforme en ADP et libère de l'énergie contenue dans des liaisons entre molécules de phosphate. Cette transformation se résume comme suit :



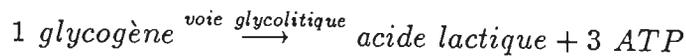
Il existe dans la cellule un mécanisme de régulation qui tend à régénérer les réserves en ATP quand celles-ci sont consommées. La régénération se fait à partir de l'ADP et de l'énergie puisée dans l'alimentation (nutriments) :



Ce mécanisme de régénération se fait par deux voies :

- la voie glycolitique
- la voie oxydative

Par la voie glycolitique, le nutriment (le glycogène) se transforme en acide lactique et en ATP. Par la voie oxydative, le glycogène en présence d'oxygène se transforme en gaz carbonique, en eau et en ATP. Lorsque l'animal est vivant les deux voies fonctionnent mais ont un rendement différent en ATP :



La voie glycolitique est rapide, c'est elle qui est utilisée lorsque l'animal fait un effort violent. Dans les autres cas, c'est la voie oxydative, lente, qui est activée. Quand l'animal est abattu, il n'y a plus d'apport en oxygène donc la voie oxydative est stoppée. Mais la cellule continue à vivre consommant de l'ATP pour ses propres besoins. Par conséquent, le processus de régénération de l'ATP se poursuit par la voie glycolitique. Comme la circulation sanguine est stoppée, la production d'acide lactique s'accumule dans la cellule, ce qui fait baisser le pH. L'importance de cette activité ATPasique post-mortem par la voie glycolitique va donc déterminer l'acidification de la viande. Il faut retenir, pour étudier la cohérence des paramètres générés par l'analyse d'images par rapport aux autres mesures effectuées, que la diminution du pH est liée à l'augmentation de la quantité d'acide lactique et à la diminution de la quantité de nutriment (c'est à dire du glycogène).

Le phénomène d'acidification de la viande après abattage a un intérêt économique important. Il est responsable en grande partie de la qualité de la viande et de son comportement dans le processus de transformation industriel. L'évolution post-mortem du pH explique 50 % de la variabilité du rendement de transformation du jambon en jambon de Paris. Le pH agit également, de manière directe ou indirecte, sur la couleur, la tendreté, la flaveur et la capacité de rétention en eau.

II.2 Conditions de l'expérience

L'expérience a été réalisée sur 4 porcs femelles élevés en loge individuelle, de race Large White, de 100 kg de poids vif (25 semaines), ayant reçu une alimentation standard.

L'abattage Au moment de l'abattage, un anesthésique est injecté et l'animal est immédiatement saigné. Cette méthode permet d'éviter une consommation massive des réserves en glycogène de l'animal au moment de l'abattage en réduisant les contractions musculaires qui résulteraient d'une anesthésie par électronarcose.

Prélèvements Des échantillons de muscle Longissimus Dorsi et Semi-Spinalis sont prélevés à 0, 1, 2, 4, 7 et 24 heures après l'abattage. Pour chaque prélèvement, un échantillon est broyé afin de mesurer le pH et deux échantillons sont congelés. L'un est destiné aux études histoenzymatiques sur coupes sériées, l'autre au dosage du glycogène et de l'acide lactique. De cette manière, trois paramètres biochimiques sont mesurés globalement (le pH, le glycogène et l'acide lactique) et le glycogène est mesuré fibre par fibre sur les coupes histologiques.

Colorations des coupes sériées Des coupes de 20 μm d'épaisseur sont réalisées à l'aide d'un microtome à congélation (-20°C), puis sont collées sur lamelle et séchées à l'air. Une coupe est colorée à l'azorubine pour l'extraction du réseau. Les activités ATPasiques myofibrillaires sont révélés à différents pH de préincubation (4.10, 4.35 et 10.4) sur trois coupes différentes et on met en évidence la teneur en glycogène des fibres musculaires sur une dernière coupe. Sur cette coloration, une teneur élevée (resp. faible) en glycogène se traduit par une coloration plutôt sombre (resp. claire) donc par une valeur faible (resp. forte) de luminance sur l'image numérique.

Après traitement par RACINE, on dispose, pour chaque fibre, de son type et de l'intensité de coloration ¹ du glycogène.

II.3 Analyse des résultats

Nous présentons dans la figure II.1, les courbes d'évolution moyenne ² dans le temps des différents paramètres mesurés (pH, glycogène, acide lactique et luminances). Ces courbes s'interprètent de la manière suivante :

Le muscle Longissimus Dorsi

- *Le pH* a pour valeur initiale 6,59. Il présente une chute régulière jusqu'à 4 heures puis se stabilise pour atteindre une valeur de 5,3 à 24 heures.
- *La teneur en glycogène* est initialement de 250 $\mu\text{mole/g sec}$. Après abattage, elle baisse régulièrement jusqu'à 7 heures post-mortem puis se stabilise pour atteindre une valeur finale de 77 $\mu\text{mole/g sec}$ à 24 heures.

¹luminance variant de 0 à 255

²observées sur les 4 animaux

MOYENNE (1, 2, 3, 4)

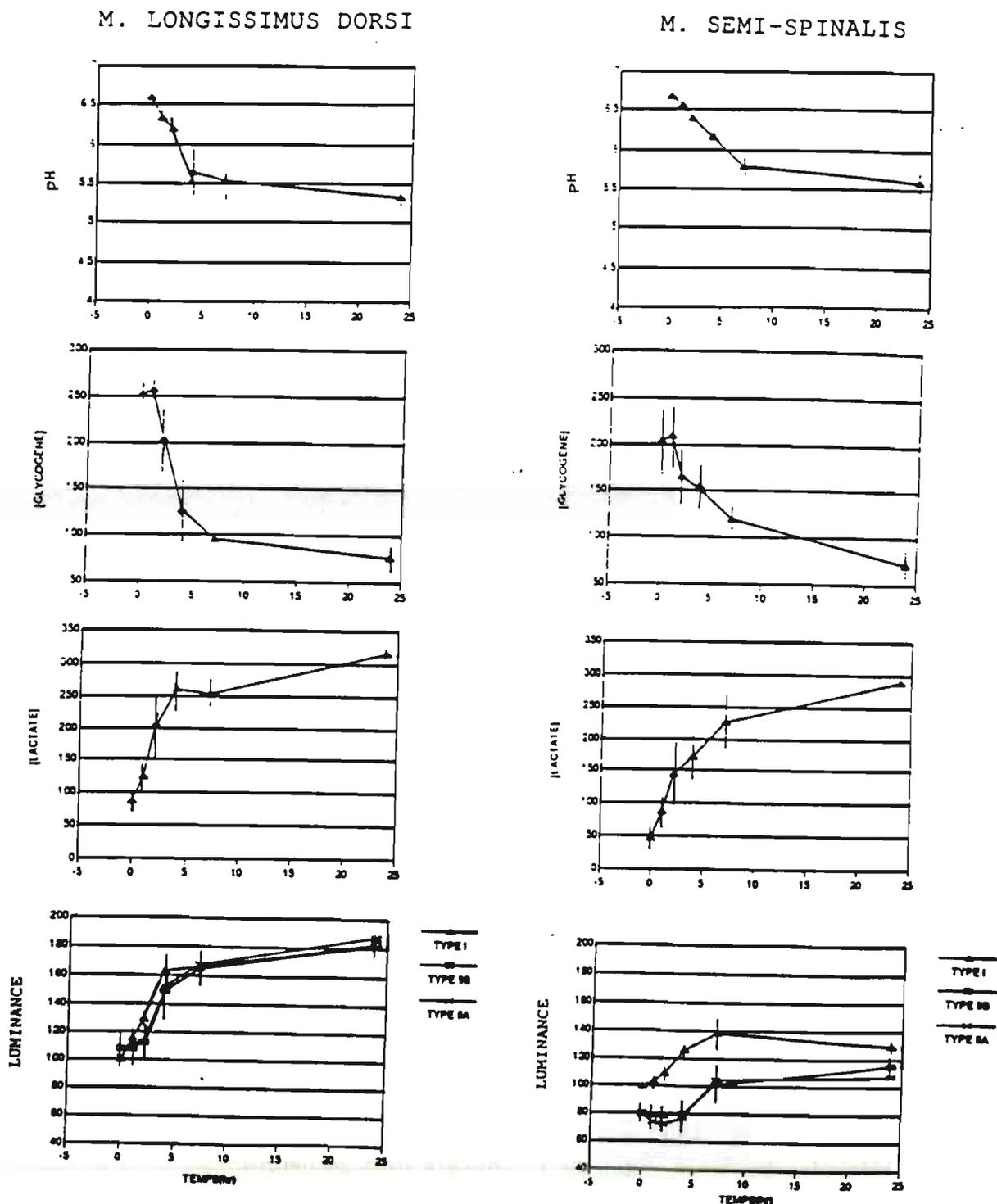


Figure II.1 : Les courbes d'évolution dans le temps des paramètres mesurés : pH, glycogène, acide lactique et luminances sur les colorations du glycogène

- *La teneur en lactate* est initialement de 80 $\mu\text{mole/g sec}$. Elle croît régulièrement avec le temps pour atteindre un plateau (250 $\mu\text{mole/g sec}$) à partir de 4 heures. La valeur finale, à 24 heures, est de 312 $\mu\text{mole/g sec}$.
- *Les luminances observées sur les colorations glycogène* augmentent rapidement pendant les 4 à 7 premières heures puis plus lentement par la suite. Les vitesses d'augmentation de la luminance sont analogues pour les trois types de fibres.

Les trois courbes d'évolution moyennes des luminances par type de fibre traduisent une décroissance des quantités de glycogène contenues dans les fibres. Cette information est cohérente avec une réduction de la teneur globale du muscle en glycogène.

Le muscle Semi-Spinali

- *Le pH* part de 6,66. Il baisse rapidement durant les premières heures suivant l'abattage, puis se stabilise et prend la valeur 5,6 à 24 heures.
- *La teneur en glycogène* est initialement de 200 $\mu\text{mole/g sec}$, puis elle baisse régulièrement après abattage pour atteindre 72 $\mu\text{mole/g sec}$ à 24 heures.
- *La teneur en lactate* passe de 50 $\mu\text{mole/g sec}$ à 0 heures à 287 $\mu\text{mole/g sec}$ à 24 heures.
- *Les luminances observées sur les colorations glycogène* augmentent pendant les 7 premières heures. La luminance évolue faiblement par la suite. Les vitesses d'évolution de la luminance de chacun des 3 types de fibre sont analogues. L'examen des courbes fait apparaître une différence systématique de la teneur en glycogène entre les types de fibre. Les fibres de type I ont une plus forte luminance, donc une plus faible teneur en glycogène, que les fibres IIa et IIB entre 0 et 24 heures post-mortem. Aucune différence notable n'a été notée entre les teneurs en glycogène des fibres IIa et IIb sur la période étudiée.

Tout comme pour le muscle LD, les courbes d'évolution des paramètres sont cohérentes entre elles.

II.4 Conclusion

Sur les deux muscles analysés, les courbes d'évolution des luminances sont cohérentes avec les courbes d'évolution des paramètres biochimiques. Ces résultats permettent donc de valider l'utilisation de l'outil analyse d'images.

Les courbes de luminance mettent en évidence que les fibres de type I sont initialement plus pauvres en glycogène que les fibres de type II dans le muscle SS, sans que

les vitesses de dégradation post-mortem soient très différentes. Dans le muscle LD, la dégradation est la même pour tous les types de fibre. Les différences de teneurs initiales en glycogène entre les types de fibre dépendent donc du muscle considéré. Une répétition de l'expérience sur un effectif plus important d'animaux est maintenant nécessaire pour confirmer ces résultats.

La poursuite du travail consiste à étudier l'influence de facteurs de variation (race, conditions pré-abattage, mode d'élevage, ...) sur la teneur initiale en glycogène et sa dégradation post-mortem en fonction des muscles et des types de fibre musculaire. Tous ces travaux pourront permettre de mettre en évidence les caractéristiques histologiques musculaires à rechercher pour obtenir une bonne qualité de viande. L'apport décisif de RACINE dans cette expérimentation est d'avoir permis la quantification du glycogène au niveau de la fibre et son suivi dans le temps en fonction des types de fibres. Les résultats obtenus sont intéressants et originaux et démontrent que RACINE est réellement un outil novateur. La lourdeur des méthodes de typage traditionnelles n'avaient jusqu'à présent pas permis de réaliser ce type d'étude.

Chapitre III

Conclusion

Dans les deux applications présentées, les résultats générés par RACINE sont cohérents avec ceux de la bibliographie. Dans la deuxième application, nous avons montré qu'ils sont cohérents avec les paramètres biochimiques mesurés au cours de l'expérience.

Les résultats obtenus dans la deuxième application sont originaux : nous avons montré quantitativement que la dégradation du glycogène se passe de manière différente dans les deux muscles étudiés sur les animaux observés.

Ces résultats ont été obtenus à partir d'un nombre de fibres important (10000 fibres environ) ayant une réelle valeur statistique. L'utilisation de RACINE est pour cela déterminante car son degré d'automatisation permet un gain de temps élevé par rapport aux autres méthodes employées.

Par ailleurs, le typage est réalisé de manière plus précise puisqu'il est déterminé par un cumul de l'information obtenue au niveau de la fibre. Nous n'avons présenté dans cette partie que des résultats moyennés sur les 4 animaux. Dans [Blandin89], on montre que la variabilité inter-animale est forte. L'information générée par RACINE étant obtenue au niveau de la fibre, il est possible de conduire des analyses très fines pour étudier cette variabilité.

De plus, RACINE permet d'analyser la répartition spatiale des fibres. En effet, nous connaissons l'emplacement des fibres sur l'image (barycentre). Cette information spatiale peut être croisée avec les autres informations caractérisant la fibre (type, paramètres morphologiques, paramètres supplémentaires, ...). L'exploitation de ces données sort du cadre de cette thèse.

Enfin, grâce à sa méthode semi-automatique de recalage de coupes, RACINE permet l'analyse à faible coût de plusieurs colorations paramètre. Cette possibilité rend l'outil relativement puissant en ouvrant au biologiste des possibilités d'analyse de substances biochimiques quelconques en fonction des types de fibres.

Conclusion générale

Nous avons présenté dans cette thèse un travail de conception et de réalisation d'un logiciel de traitement et d'analyse d'images inédit qui permet l'exploitation d'informations histologiques quantitatives concernant les fibres musculaires.

Jusqu'à présent, les travaux d'histologie, longs et fastidieux, n'apportaient souvent que des résultats qualitatifs ou bien ne permettaient pas d'associer simultanément typage et quantification d'un (ou de plusieurs) paramètre supplémentaire (par exemple, la teneur en glycogène des fibres musculaires). Le logiciel RACINE résoud ces problèmes, il automatise en grande partie le typage des fibres et permet la quantification d'un (ou de plusieurs) paramètre supplémentaire croisé avec le type des fibres. Des colorations paramètres autres que le glycogène sont également analysables par le même procédé.

Nous avons présenté dans la partie 4 deux applications que nous avons réalisées à l'aide de ce logiciel. Les résultats obtenus montrent que les informations générées par le logiciel

- sont cohérentes avec l'information biologique disponible par ailleurs,
- sont quantifiés avec une précision et un gain de temps importants par rapport aux autres méthodes employées, même les plus récentes (par exemple, celle d'Henckel),
- permettent d'obtenir des résultats biologiques nouveaux (confère les courbes de dégradation du glycogène par type de fibre).

Développé et expérimenté sur le muscle de Porc, sa version finale est applicable à toute autre étude histologique, que ce soit dans des perspectives agronomiques ou médicales dès lors que les images des colorations respectent les hypothèses sur lesquelles nous nous sommes appuyées (homogénéité de l'éclairage, bon contraste objet-fond).

Les objectifs que nous nous sommes fixés dans cette thèse sont atteints :

Nous avons utilisé des résultats méthodologiques récents en analyse d'images pour obtenir un logiciel le plus automatique et le plus performant possible (binarisation automatique, détection de contours, relaxation, ...).

RACINE est un logiciel clé en main utilisable par des biologistes non spécialistes de l'informatique et du traitement d'images.

Il automatise de manière importante l'ensemble des fonctionnalités requises par le biologiste.

Cette thèse constitue donc une étude de faisabilité qui a démontré l'intérêt de l'outil analyse d'images pour explorer ce domaine de la biologie. Il nous paraît maintenant souhaitable d'envisager une refonte de certaines parties de la chaîne de traitements qui, à l'usage, semblent pouvoir être améliorées, rendues plus homogènes et plus élégantes.

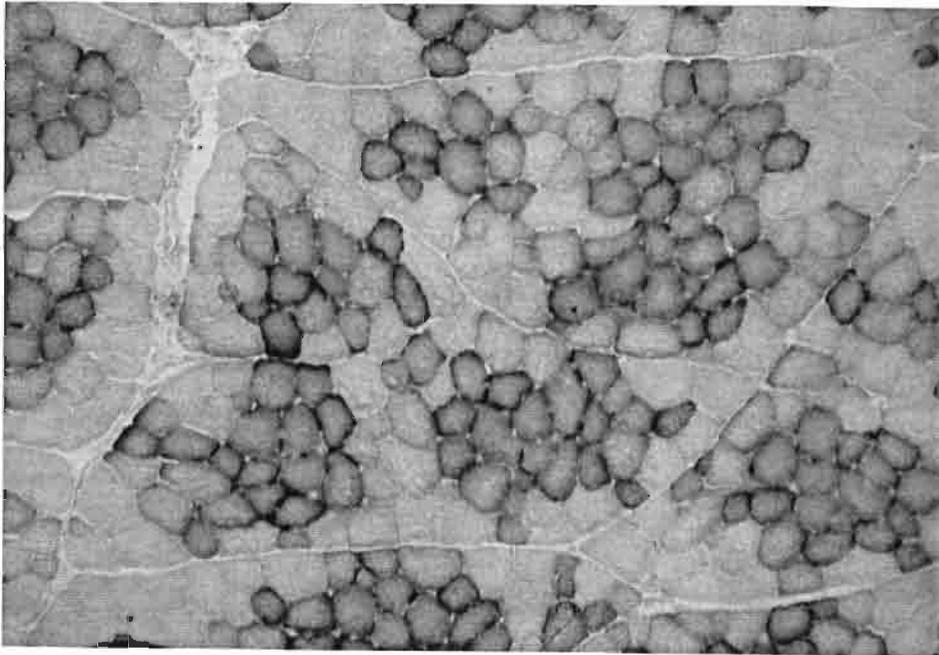


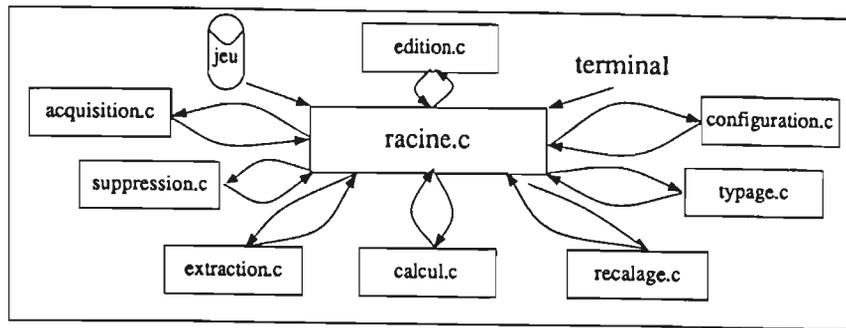
Figure .1 : Coloration SDH

Il nous semble, par exemple, souhaitable de reprendre l'étude d'extraction de l'inter-fibres. Nous proposons dans cette thèse deux algorithmes adaptés chacun à un type d'images (coloration de référence et coloration à recalcr). Il est certainement possible d'unifier l'approche pour aboutir à un seul algorithme capable d'extraire l'information structurelle sur toutes les colorations en utilisant, par exemple, plus directement les opérateurs de Leplumey et Lebellegard.

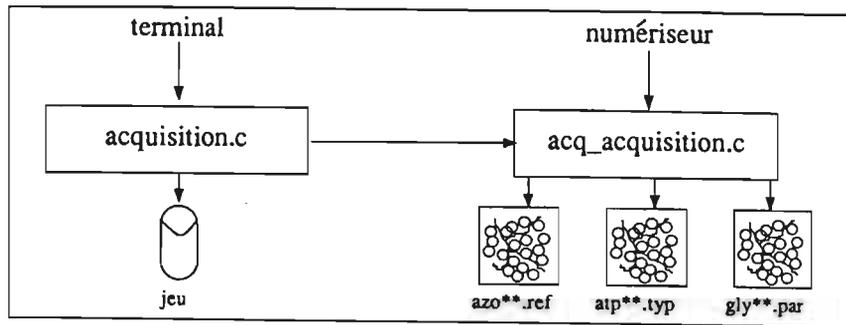
D'autres aspects sont à développer. Nous pensons intégrer dans ce logiciel l'analyse de colorations plus complexes contenant une information texturale plutôt que structurelle. Nous pouvons citer l'exemple de la coloration SDH qui colore les mitochondries à l'intérieur des fibres (voir figure .1).

Annexe A

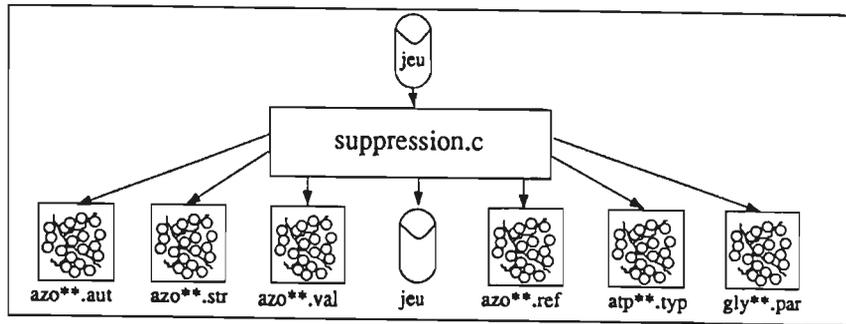
Schémas fonctionnels des appels de modules



module général



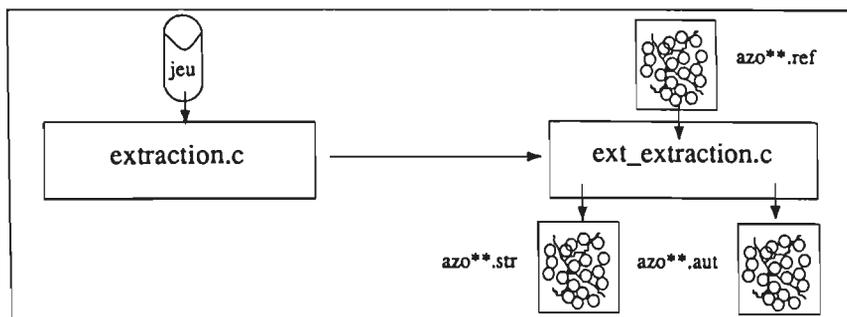
module d'acquisition



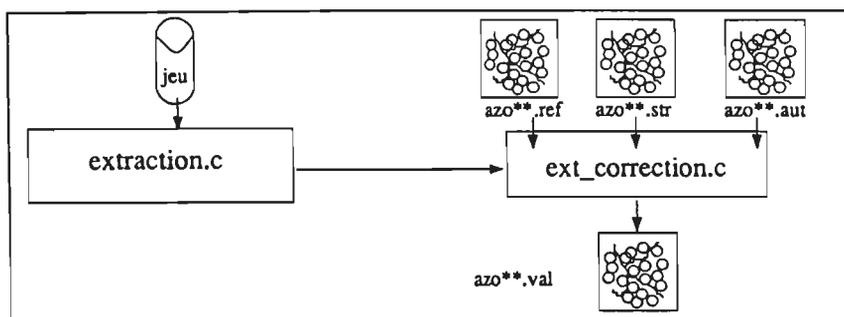
module de suppression



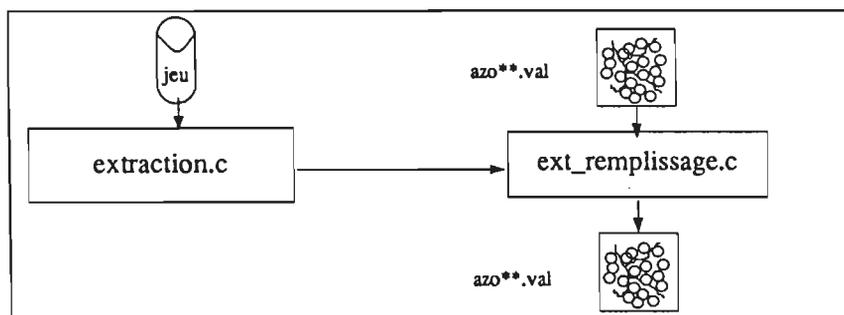
Figure A.1 : Les fonctions de RACINE



module d'extraction automatique



module d'ajout-suppression de branches



module de remplissage de trous

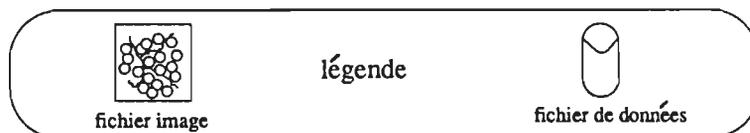


Figure A.2 : Les fonctions de RACINE (suite)

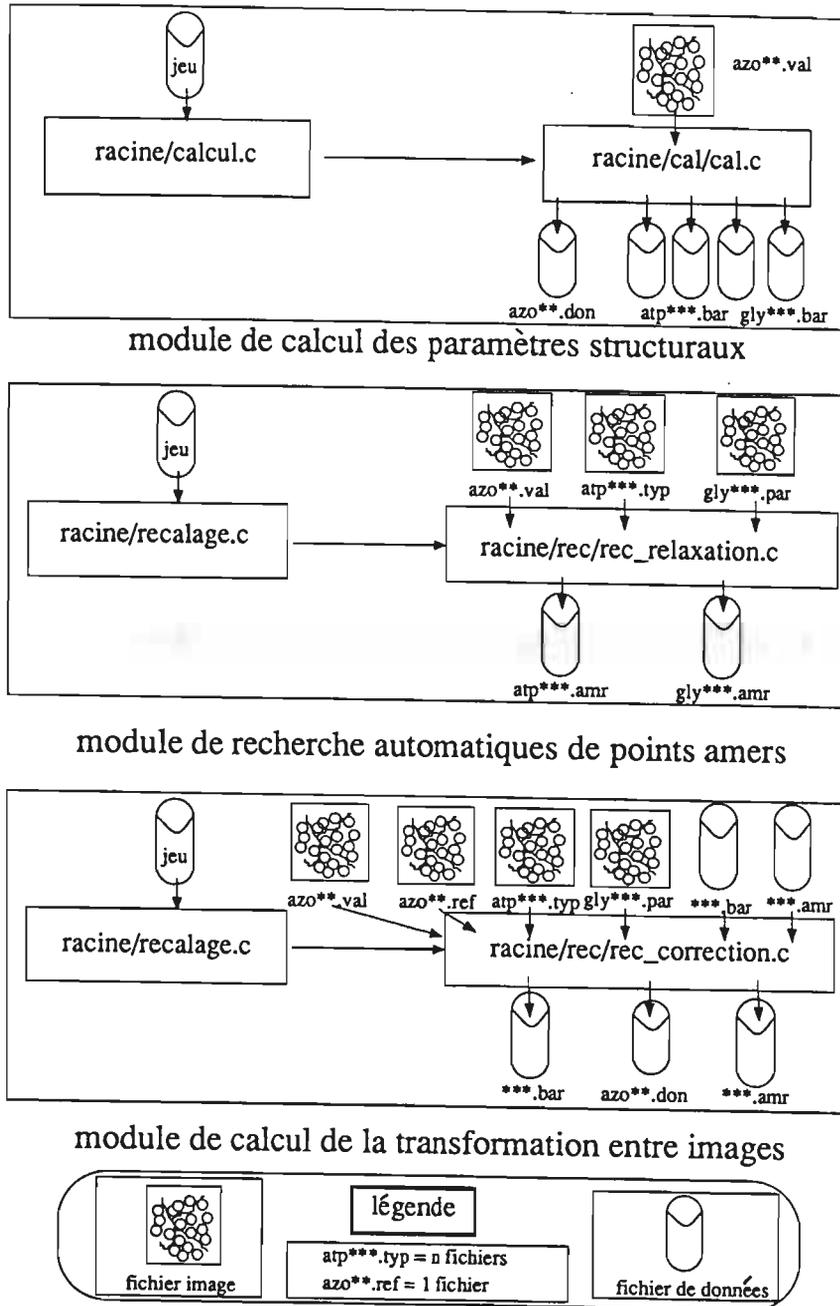
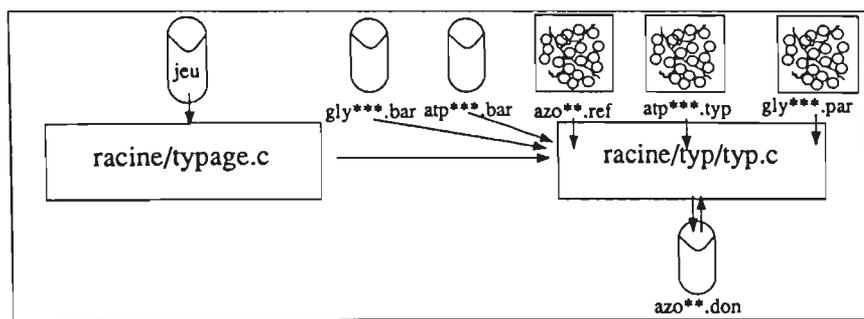
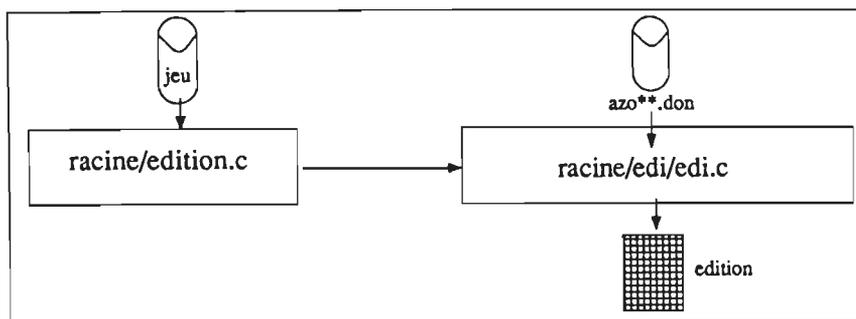


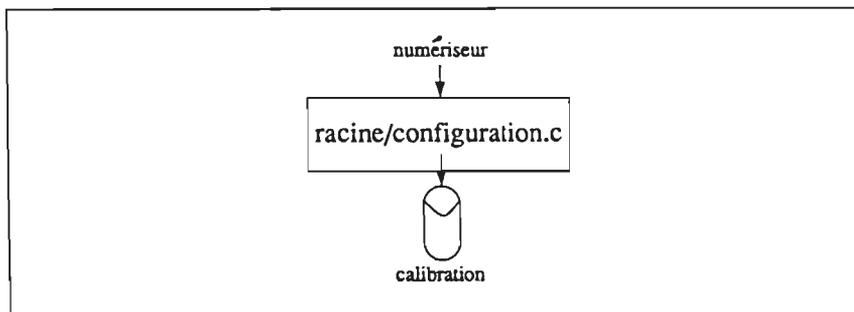
Figure A.3 : Les fonctions de RACINE (suite)



module de typage des fibres



module d'édition des résultats



module de configuration

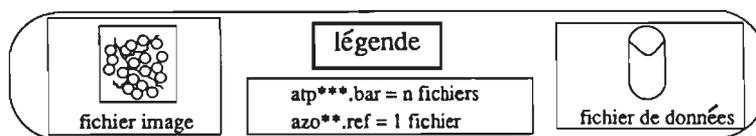


Figure A.4 : Les fonctions de RACINE (suite)

Bibliographie

- [Anglade86] Anglade A, Maitre H, Bousquet T. Propagation automatique d'amers pour le recalage de deux images. Semaine Internationale de l'image électronique. Nice. Avril 1986.
- [Altman81] Altman, Paton, Taylor, Ward. Measurement of muscle fiber diameter by computer-aided image analysis. Int.J.Man Machine Studies. no 14. p437-447. 1981.
- [Ayache83] Ayache N. Un système de vision bidimensionnelle en robotique industrielle. Thèse de docteur-ingénieur. Université de Paris-Sud Orsay. Juin 1983.
- [Ayache86] Ayache N, Faugeras D. HYPER : a new approach for the recognition and positioning of two-dimensional objects. IEEE PAMI. Vol PAMI-8. no 1. Janvier 1986.
- [Ayache89] Ayache N. Vision stéréoscopique et perception multisensorielle, applications à la robotique mobile. Edition InterEditions. 1989.
- [Ballard82] Dana H.Ballard, Christopher M.Brown. Computer Vision. Prentice Hall 1982. p72-73.
- [Barnard80] Barnard S.T, Thompson W.B. Disparity analysis of images. IEEE PAMI vol PAMI-2, no 4. p 333-340. Juillet 1980.
- [Bertrand87] Jean-Francois Bertrand. *Thèse de doctorat*: Codage d'images par segmentation et séparation en deux composantes, optimisation des performances d'un système de codage d'images monochromes. 1986. INSA Rennes. p 54-76.
- [Beucher87] Beucher S. Watersheds of functions and picture segmentation. Support de cours de l'Ecole des Mines de Paris. Caen. Septembre 1987.
- [Blandin89] Blandin A. Evolution post-mortem du Ph et dégradation du glycogène selon les différents types de fibre dans le muscle de porc. Rapport de DEA Biologie et Agronomie de l'Université de Rennes 1. Septembre 1989.

- [Bohineust81] Bohineust H. Essai d'étude de la morphologie des muscles striés. Rapport de stage de l'ENSM Paris. 1981.
- [Brooke70] M.H Brooke, K.K Kaiser. Muscle fiber types : how many and what kind ?. 1970. Arch. Neurol. . 23 : p369-379.
- [Buche89a] Buche P, Lefaucheur L, Mauclair P. Etude de réseaux par imagerie numérique et application à des coupes sériées de fibre musculaire. Actes des *XXI^{èmes}* Journées de Statistiques. Rennes 22-26 Mai 1989. p 33-36.
- [Buche89b] Buche P. Description du logiciel RACINE version 0.1. Note technique no 89/03 du Laboratoire de Recherches de la Chaire de Mathématique-Informatique INRA/ENSA de Rennes. Septembre 1989.
- [Bye89] Bye E, Gronnerod O, Vogt N.B. Multivariate classification of histochemically stained human skeletal muscle fibres by the SIMCA method. Histochemical Journal 21, p 15-22. 1989.
- [Camillerapp76] Camillerapp J. *Thèse de docteur es sciences*: L'utilisation du contexte en reconnaissance des formes. 1976. Université Pierre et Marie Curie Paris VI. p92-98.
- [Camillerapp84] Camillerapp J., I. Leplumey. Codage du contexte et détection au moyen de règles de réécriture. Congrès AFCET 1984. Tome 1. p 141-150.
- [Camillerapp85] Camillerapp J., P. Lebellegard. Détection de contours par coopération d'une analyse syntaxique ligne et d'une analyse syntaxique colonne. Congrès AFCET 1985. Tome 1. p 187-199.
- [Canny83] Canny J.F. Finding edges and lines in images. MIT Artificial Intelligence Laboratory. TR 720. 1983.
- [Chaume79] Chaume D, Savary G, Stehle J.L. Extraction de contours en traitement d'images. 2eme congrès AFCET-IRIA. Tome 2. p 67-73. Toulouse 1979.
- [Chen79] Chen P.C, Pavlidis T. Segmentation by texture using a co-occurrence matrix and a split and merge algorithm. CGIP 10. p 172-182. 1979.
- [Cheng81] Cheng J.K. Image recognition by matching relational structures. IEEE p 542-547. 1981.
- [Chow72] Chow C.K, Kaneko T. Automatic boundary detection of the left ventricle from Cineangiograms. Comp. and Biomed. Res., vol 5, p 388-410. 1972.
- [Coster85] Michel Coster, Jean-Louis Chermant. Précis d'analyse d'images. Editions du CNRS. 1985. p162-221.

- [Denizon86] Alain Denizon. *Thèse de docteur ingénieur: Etude de la texture musculaire par traitement numérique d'images*. 1986. Université de Clermont-Ferrand II.
- [Deriche87a] Deriche R. Optimal edge detection using recursive filtering. Proceedings of the first International Conference on Computer Vision. London. Juin 1987.
- [Deriche87b] Deriche R, Cocquerez J.P. Extraction de composantes connexes basée sur une détection optimale des contours. Actes du congrès MARI 87. p 1-9. 1987.
- [Duda73] Duda R.O, Hart P.E. Pattern Classification and Scene Analysis. Edition Wiley. New York. 1973.
- [Dudley83] Dudley, Dayhoff, Ledley. Muscle biopsy data acquisition and display. Proceedings of the 7th annual symposium on Computer Applications in Medical Care. Washington. Octobre 1983. p763-766.
- [Figueiras87] Figueiras-Vidal, Paez Borrillo, Garcia Gomez. On using cooccurrence matrices to detect periodicities. IEEE Transactions on ASSP. Volume ASSP 35. no 1. 1987.
- [Friedlander87] Friedlander F, Meyer F. A sequential algorithm for detecting watersheds on a gray level image. Proceedings of the seventh international congress for stereology. Part 2. p 663-668. Caen 1987.
- [Fuzuki80] Fuzuki A., Cassens R.G. A hystochemical study of new fiber types in muscle of the growing pig. Journal of Animal Science. Vol 5. p 1449-1461.
- [Gonzalez87] Gonzalez R.C, Wintz P. Digital Image Processing. Second edition. Addison Wesley. 1987.
- [Henckel89] P. Henckel. Image analysis, a rapid method to determine histochemical properties of skeletal muscles including individual fibre types. 40th annual meeting of the european association for animal production. Dublin, Ireland. 1989.
- [Jain80] Jain, Smith. Segmentation of muscle cell pictures, a preliminary study. IEEE Transactions on PAMI. Vol PAMI-2, no 3, p232-243. 1980.
- [Jardrin88] Jardrin J.L. Algèbre, algorithmes et programmes en Pascal. Edition Dunod BO-PRE. 1988.
- [Keskes82] Keskes N, Boulanouar A, Faugeras O.D. Application of image analysis techniques to seismic data. Proc. of ICASSP. p 855-857. Paris 1982.

- [Kiessling83] Kiessling K. H., Hansson I. Fiber composition and enzyme activities in pig muscles. Swedish Journal Agric. Research. Vol 13. p 257-261.
- [Kohler78] Ralf Kolher. An image segmentation based on thresholding. COIN department, University of Massachusetts. Tr 78-23. 1978.
- [Kohler81] Ralf Kolher. An segmentation system based on thresholding. CGIP 15. p319-338.
- [Lacourt81] A. Lacourt, P.V. Tarrant. Selective glycogen depletion and recovery in skeletal muscles fibre types of young bulls subjected to a behavioural stress.
- [Lebellegard87] Lebellegard P. Utilisation de règles de réécriture en détection de contours. Thèse de docteur ingénieur. Université de Rennes 1. Mars 1987.
- [Lefaucheur86] Lefaucheur L., Vigneron P. Post-natal changes in some histochemical and enzymatic characteristics of three pig muscles. Meat Science. Vol 16. p 199-216.
- [Lefaucheur89] Lefaucheur L., Le Dividich J., Mourot J., Monin G., Ecolan P., Crausds. Influence of environmental temperature on growth, muscle fiber type development and metabolism of muscle and adipose tissue in the pig : relation to meat quality. A paraitre dans Journal of Animal Science.
- [Lepetit85] Lepetit. Comportements rhéologiques du tissu musculaire. Influences des traitements thermiques. Thèse de Docteur-Ingénieur. Université de Clermont-Ferrand II. Juillet 1982.
- [Leplumey86] Ivan Leplumey. *Thèse de docteur ingénieur: Une approche structurale de la segmentation d'images et de la squelettisation.* Juin 1986. Université de Rennes 1.
- [Marr80] Marr D, Hildreth E. Theory of edge detection. Proc. Royal Society London. B207:187-217. 1980.
- [Mather87] Mather P.M. Computer Processing of remotely-sensed images, a introduction. Edition John Wiley & Sons. 1987.
- [Meyer79] Meyer F. Cytologie quantitative et Morphologie Mathématique. Thèse de docteur ingénieur de l'ENSM Paris. 1979.
- [Meyer85] Meyer F. The Binary Skeleton in Three Steps. Internal Note 1985. CMM Fontainebleau.
- [Miclet84] Miclet L. Méthodes structurales pour la reconnaissance des formes. Eyrolles 1984.

- [Milgram87] Milgram M., Pépin F. Squelettisation à partir des contours : application à la mise en correspondance des régions. Congrès MARIS7. Tome 2. p 23-28. Mai 1987.
- [Monga87] Monga O. An optimal region growing algorithm for image segmentation. IJPRAI. Volume 1. no 3 et 4. p 351-375. 1987.
- [Moravec77] Moravec H.P. Towards automatic visual obstacle avoidance. IJCAI 1977. p 584.
- [Nemeth79] P. Nemeth, H.W. Hofer, D. Pette. Metabolic heterogeneity of muscle fibers classified by myosin ATPase. Histochemistry 63. p191-201. 1979.
- [Nemeth81] P. Nemeth, D. Pette. Succinate Dehydrogenase activity in fibres classified by myosin ATPase in three hind limb muscles of rat. Journal of Physiology, 320, p73-80.1981.
- [Pavlidis74] Pavlidis T, Horowitz S.L. Segmentation of plane curves. IEEE transactions on Computers, C-23(8), 860-870. Août 1974.
- [Pavlidis82] Pavlidis. An asynchronous thinning algorithm. CGIP no 20. 1982.
- [Postaire87] Postaire J.G. De l'image à la décision. Edition Dunod Informatique. 1987.
- [Pool79] Pool W, Diegenbach P.C, Ockeloen B.J.T. Quantitative Succinate-Dehydrogenase Histochemistry. A comparison between visual and quantitative muscle fibre typing. Histochemistry 64, p 263-272. Springer-Verlag 1979.
- [Preteux86] Preteux F, Schmitt M. Un nouvel algorithme en Morphologie Mathématique : les r,h maxima et les r,h minima. Applications en scanner, IRM et angiographie. Deuxième colloque image de Nice. Avril 1986. p 469-475.
- [Rosenfeld66] Rosenfeld A, Pfaltz J.L. Sequential operations in digital image processing. Journal of ACM 13. 1966. p 471-494.
- [Rosenfeld82] Rosenfeld A, Kak C. Digital Picture Processing. 2eme édition. Volume 2 . p 152-183. 1982.
- [Ranft83] Ranft, Prewitt et Fu. Segmentation of microscopic transverse sections pictures of muscle tissue using a split and merge technique. Proceedings of Pattern Recognition. Sessions 83. Medical Applications. p 626-628.
- [Reichman82] H. Reichmann, D. Pette. A comparative microphotometric study of succinate dehydrogenase activity levels in type I, IIA and IIB fibres of mammalian and human muscles. Histochemistry. 74. p27-41. 1982.

- [Serra82] J.Serra. Image Analysis and Mathematical Morphology. Academic Press 1982.
- [Shen85] Shen j., Castan S. Un nouvel algorithme de détection de contours. Congrès AFCET 1985. p 200-213.
- [Sibony82] Sibony M, Mardon J.C. Systèmes linéaires et non linéaires. Editions Hermann. 1982.
- [Skordas88] Skordas T, Horaud R. Mise en correspondance structurelle pour la vision stéréoscopique. TSI no 6 vol 7. 1988.
- [Spurway81] N.C Spurway. Objective characterization of cells in terms of microscopical parameters : an example from muscle histochemistry. Histochemical Journal. 13. p269-317. 1981.
- [Swatland83] H.J Swatland. The radial distribution of succinate dehydrogenase activity in porcine muscle fibres. Histochemical Journal. 16. p321-329. 1984.
- [Suzuki80] A. Suzuki, R.G Cassens. pH sensitivity of myosin adenosine triphosphatase and subtypes of myofibres in porcine muscle. Histochemical Journal 12, p687-683. 1980.
- [Tomita82] Tomita, Shirai, Tsuji. Description of textures by a structural analysis. IEEE Transactions on PAMI. volume PAMI-4. p 183-191. 1982.
- [Toumazet87] Toumazet J.J. Traitement de l'image sur micro-ordinateur. Edition Sybex. 1987.
- [VanDerLaerse83] W. J. Van Der Laerse, P. C. Diegenbach and Suharti Maslam. Quantitative histochemistry of three mouse hind-limb muscles: the relationship between calcium-stimulated myofibrillar ATPase and succinate dehydrogenase activities. Histochemical Journal. 16. p529-541. 1984.
- [Vigneron76] P.Vigneron, F.Bacou, C.R Ashmore. Distribution heterogeneity of muscle fiber types in the rabbit *longissimus* muscle. Journal of animal science. Vol 43. No 5. 1976.
- [Wang81] Wang, Vagnucci et Li. Gradient inverse weighted smoothing scheme and the evaluation of its performance. CGIP Volume 15. no 2. Février 1981.
- [Wong83] Wong et Fu. A parallel algorithm for muscle tissue images classification. Proceedings of the 7th Annual symposium on Computer applications in Medical Care. Washington. Octobre 83. p 751-754.

Table des Matières

Introduction	3
Première Partie : Individualisation des fibres	11
I Délimitation du problème à résoudre	15
I.1 Description du muscle	15
I.2 Information structurelle sur une coupe	15
I.3 Réseau inter-fibres sur la coloration de référence	17
I.4 Réseau inter-fibres sur les colorations à recaler	18
II Les méthodes d'extraction de primitives dans la bibliographie	19
II.1 Introduction	19
II.2 Détecteurs basés sur la valeur de luminosité du point	20
II.2.1 Critère de bimodalité	21
II.2.2 Seuillage optimal	22
II.3 Détecteurs basés sur la combinaison des luminosités dans un voisinage donné	24
II.3.1 Opérateurs de type module de gradient	25
II.3.2 Opérateurs de type convolution avec k masques	27
II.3.3 Opérateurs de type Laplacien	27
II.3.4 Méthodes utilisées pour déterminer le statut d'un point	30
II.4 Détecteurs de lignes	32
II.4.1 Programmation dynamique	32
II.4.2 Analyse syntaxique	32
II.5 Détecteurs basés sur l'analyse de régions de points	33

II.5.1	Morphologie Mathématique	34
II.5.2	Croissance de régions	41
II.6	Détecteurs de contours basés sur une approche hiérarchique	44
II.7	Conclusion	44
III	Individualisation des fibres sur la coloration de référence	47
III.1	Algorithme de Denizon	47
III.1.1	Acquisition	48
III.1.2	Amélioration de la qualité de l'image	48
III.1.3	Extraction des contours	49
III.1.4	Suppression des artefacts	51
III.1.5	Fermeture des contours	52
III.1.6	Lissage final des fibres	52
III.1.7	Conclusion	53
III.2	Normalisation des images	54
III.2.1	Egalisation d'histogramme	54
III.2.2	Application particulière de l'égalisation d'histogramme	56
III.3	Extraction du réseau	57
III.3.1	Binarisation du réseau	57
III.3.2	Elimination du bruit apparu à la binarisation	60
III.4	Fermeture des branches du réseau	61
III.4.1	Calcul de l'image des crêtes	63
III.4.2	Calcul du squelette binaire	64
III.4.3	Ebarbulage du squelette binaire	68
III.4.4	Fermeture à courte distance	69
III.4.5	Fermeture à longue distance	71
III.5	Conclusion	72
III.5.1	Correction interactive du réseau obtenu	72
III.5.2	Restitution de l'épaisseur du réseau	73
IV	Extraction d'informations structurelles sur les colorations à recaler	75
IV.1	Prétraitement des colorations à recaler	75

IV.1.1	Opérateur de Canny	76
IV.1.2	Opérateur de Deriche	78
IV.1.3	Améliorations	80
IV.2	Extraction de l'information réseau disponible	82
IV.3	Conclusion	86
V	Conclusion sur les algorithmes d'extraction	87
V.1	Validation des algorithmes d'extraction	87
V.2	Discussion, remise en cause	89
V.2.1	Révision mineure	90
V.2.2	Révision majeure	91
 Deuxième Partie : Suivi des fibres		 93
I	Recherche d'un modèle de déformation	97
I.1	Introduction	97
I.2	Mise en oeuvre d'une transformation translation-rotation	98
I.2.1	Introduction	98
I.2.2	Calcul du vecteur de translation	99
I.2.3	Calcul de l'angle de la rotation	100
I.2.4	Résultats de la validation	102
I.3	Mise en oeuvre d'une transformation polynômiale	103
I.3.1	Introduction	103
I.3.2	Calcul des coefficients du modèle polynômial	103
I.3.3	Adéquation du modèle à notre application	107
II	Détermination automatique d'amers pour le recalage des images	113
II.1	Introduction	113
II.2	Etude de la mise en correspondance dans la bibliographie	113
II.2.1	Matrice de pixels	114
II.2.2	Points caractéristiques	115
II.2.3	niveau segment de droite	118

II.2.4 Niveau graphe	119
II.3 Mise en oeuvre de la recherche automatique des amers	123
II.3.1 Choix d'un niveau de représentation	123
II.3.2 Description de la structure de contrôle	127
II.3.3 Validation de la procédure de mise en correspondance	135
III Conclusion sur le recalage des colorations	139
Troisième Partie : Présentation du logiciel RACINE	141
I Interface utilisateur	145
I.1 Structure de données associée à une expérimentation	145
I.1.1 Fichiers	146
I.1.2 Lieux de stockage	147
I.2 Modules	148
I.2.1 Acquisition	148
I.2.2 Extraction des informations structurales	150
I.2.3 Calcul des paramètres structurels	151
I.2.4 Mise en correspondance d'images	151
I.2.5 Typage interactif des fibres	152
I.2.6 Calibration des mesures	155
I.2.7 Edition des paramètres calculés	156
I.2.8 Suppression de jeux de coupes	156
II Caractéristiques techniques du logiciel RACINE	157
II.1 Organisation des sources	157
II.2 Portabilité et ouverture	158
II.3 Performances	160
III Conclusion	163

Quatrième Partie : Application de RACINE à l'étude des caractéristiques histologiques du muscle de porc	165
I Etudes des caractéristiques histoenzymatiques des muscles LD et SS	169
I.1 Comparaison des proportions et surfaces des différents types de fibres sur les deux muscles	169
I.2 Analyse du lien surface-type des fibres	170
I.3 Conclusion	171
II Etude de la dégradation post-mortem du glycogène selon les types de fibres	173
II.1 Phénomène biologique et son intérêt économique	173
II.2 Conditions de l'expérience	174
II.3 Analyse des résultats	175
II.4 Conclusion	177
III Conclusion	179
Conclusion générale	183
Annexes	185
A Schémas fonctionnels des appels de modules	185

Résumé

On présente la réalisation d'un système d'analyse multi-images de coupes sériées. Celui-ci permet la caractérisation quantitative de fibres musculaires en deux étapes :

- l'individualisation des fibres sur une coloration de référence
- le suivi des fibres sur les autres colorations du jeu de coupes sériées afin de réaliser le typage des fibres et de mesurer différents paramètres supplémentaires.

Pour effectuer ces tâches, des algorithmes d'extraction de primitives, de recalage et de mise en correspondance d'images ont été développés et constituent le noyau du logiciel RACINE.

Ce logiciel étant destiné à des biologistes non-spécialistes de l'informatique et du traitement d'images, une interface utilisateurs rendant transparente la gestion des programmes et des données a été développée.

Enfin, deux applications à la caractérisation des fibres musculaires du porc valorisent la conception de ce logiciel et en présentent les potentialités.

Mots clés

analyse d'images, extraction de primitives, binarisation automatique, programmation dynamique, détection de contours, recalage d'images, mise en correspondance d'images, processus de relaxation, histologie quantitative, muscle.