UNIVERSITE DE MONTREAL

DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE SEMI-AUTOMATIQUE D'ANALYSE D'IMAGES RADIOAUTOGRAPHIQUES

par

Marie-Claude GRENIER

INSTITUT DE RECHERCHES CLINIQUES DE MONTREAL

ET

INSTITUT DE GENIE BIOMEDICAL
ECOLE POLYTECHNIQUE

MEMOIRE PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION

DU GRADE DE MAITRISE ES SCIENCES APPLIQUEES (M.Sc.A.)

JUIN 1990

c Marie-Claude Grenier 1990

National Library of Canada
Bibliothèque nationale du Canada

Canadian Theses Service
Service des thèses canadiennes

Ottawa, Canada
K1A 0N4

The author has granted an irrevocable non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of his/her thesis by any means and in any form or format, making this thesis available to interested persons.

L'auteur a accordé une licence irrévocable et non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de sa thèse de quelque manière et sous quelque forme que ce soit pour mettre des exemplaires de cette thèse à la disposition des personnes intéressées.

The author retains ownership of the copyright in his/her thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without his/her permission.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège sa thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

ISBN 0-315-58934-5

Canada

UNIVERSITE DE MONTREAL

ECOLE POLYTECHNIQUE

Ce mémoire intitulé:

DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE SEMI-AUTOMATIQUE
D'ANALYSE D'IMAGES RADIOAUTOGRAPHIQUES

présenté par: Marie-Claude Grenier

en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de:

M. Robert Leblanc, Ph.D., président-rapporteur

M. Robert Guardo, Ph.D., directeur de recherche

M. Louis-Gilles Durand, Ph.D., co-directeur de recherche

M. Guy Mailloux, Ph.D., membre du jury

A mes racines
et à tous ceux qui,
consciemment ou inconsciemment,
ont marqué mon existence...

SOMMAIRE

Les performances de quatre méthodes d'analyse de textures sont comparées afin de caractériser et classifier trois types d'organites cellulaires (noyau, mitochondrie et gouttelette de lipides) contenus sur des images radioautographiques. Les quatre méthodes étudiées sont:

- mesures sur l'histogramme;
- mesures sur l'histogramme des différences de paires de pixels;
- méthode des matrices de longueurs de sections;
- méthode des matrices de co-occurrences.

Dans le but d'optimiser les performances de ces méthodes, nous évaluons l'effet de certaines techniques de pré-traitement d'images (réduction d'images, égalisation d'histogrammes) et de certains paramètres spécifiques (nombre d'attributs, nombre de classes de niveaux de gris, direction et distance d'analyse).

Pour atteindre ces objectifs, nous utilisons le classificateur des k plus proches voisins avec la distance de Mahalanobis dont les résultats (pourcentages de bonnes classifications) permettent de quantifier la performance des algorithmes.

Dans un premier temps, une population de trente organites par classe est choisie afin de déterminer la meilleure méthode d'analyse de textures, de sélectionner les attributs les plus discriminants et d'analyser l'influence des facteurs mentionnés antérieurement. Lors de cette étude, la probabilité d'erreur est estimée avec la méthode "leave-one-out" et les résultats obtenus démontrent que les attributs extraits des matrices de co-occurrences sont les plus discriminants.

Dans un deuxième temps, afin de tester la robustesse de la démarche choisie, on applique celle-ci à une population test de 734 organites en entraînant le classificateur à l'aide de la population formée des quatre-vingt-dix échantillons. Le résultat final obtenu, soit un pourcentage de bonnes classifications de 95%, démontre qu'il est possible de développer une méthode semi-automatique d'analyse d'images radioautographiques et d'envisager une automatisation complète de la méthode.

ABSTRACT

The ability of four algorithms to perform automatic texture discrimination of three cellular organelles (nucleus, mitochondria and lipid droplet) from autoradiographic images was investigated. The four methods studied are the first-order statistics of the gray level histogram, the gray level difference method, the gray level run length method, and the spatial gray level dependence method.

To optimize these methods, the influence of some specific parameters and the effect of image pre-processing techniques were also analyzed. The nearest neighbor pattern recognition algorithm using the Mahalanobis distance was used to evaluate the performance of the algorithms. First, a training set of 30 samples per organelle was chosen to train the classifier and to select the best discriminant features. The probability of error was estimated with the leave-one-out method and the results were expressed in percentages of correct classification.

The study showed that features extracted using the spatial gray level dependence method were the most discriminant ones. The best features set was then applied to a test population of 734 cellular organelles to differentiate the three classes. Correct classification occured for 95% of cases, which indicates that it is possible to achieve a semi-automatic analysis of radioautographic images.

REMERCIEMENTS

J'aimerais tout d'abord témoigner ma gratitude au FCAR, organisme boursier, sans lequel ce projet n'aurait pas été réalisable.

Je remercie chaleureusement Louis-Gilles Durand et Jacques de Guise pour la confiance qu'ils m'ont témoignée et pour le respect qu'ils portent envers mon autonomie et mon esprit libre...

Plus particulièrement, j'aimerais souligner l'enthousiasme, la détermination et la persévérance de Louis-Gilles qui a été une source de motivation et d'énergie depuis plusieurs années. En effet, il m'est très agréable de mentionner qu'il a été l'instigateur de ma décision d'adhérer au domaine biomédical; joignant ainsi mes intérêts pour le génie et pour la noble cause qu'est la recherche médicale... Je lui suis reconnaissante pour son soutien financier ainsi que pour le matériel de son laboratoire à l'Institut de recherches cliniques de Montréal qu'il a toujours gracieusement mis à ma disposition.

Je ne saurais passer sous silence combien il me fut agréable de travailler avec Jacques, source inépuisable de connaissances et de conseils. Son dynamisme et son inlassable dévouement envers ses étudiants sont remarquables. Au travers des réunions qu'il organise - lieux d'échanges fructueux et amicaux - il a su nous faire réaliser

l'importance de la collaboration...

Je les remercie finalement tous deux ainsi que M. Guy Mailloux pour leur disponibilité et l'intérêt qu'ils ont porté à mes travaux et surtout pour l'enthousiasme contagieux qu'ils dégagent, stimulateur d'une curiosité scientifique: élément essentiel à la recherche...

Je suis reconnaissante envers M. Robert Guardo pour le soin qu'il a porté à la révision de ce mémoire. De plus, j'aimerais témoigner ma gratitude au Dr. Marc Cantin qui, croyant aux possibilités offertes par les technologies informatiques, contribue activement à leur implantation dans les laboratoires cliniques.

J'aimerais évoquer ce générateur anonyme de temps perdu dont les appels téléphoniques, les visites et les invitations ont su me faire quitter mon bureau pour quelques heures, quelques jours ou plus... Temps perdu? Pour leur soutien moral, je dédie à chacun de ces visages une partie de ce mémoire... En particulier à Dominique, Louis, Marie, Michel, René, Roberto, Suzanne, Yves ... et surtout aux "auteurs" de mes jours: Mariette et Roland.

Le tableau ne serait pas complet sans la mention du réconfort offert par Poussi et Twidi, mes deux chattes, qui ronronnant sur mes genoux ou dans mes livres, ont participé activement à la rédaction complète de cet ouvrage, poussant à l'occasion crayon et efface!!!

TABLE DES MATIERES

SOMMAIRE v

"ABSTRACT" vii

REMERCIEMENTS viii

LISTE DES FIGURES xv

LISTE DES TABLEAUX xvi

LISTE DES SYMBOLES xviii

CHAPITRE 1: INTRODUCTION 1

1.1) Contexte clinique 1

1.1.1) L'hypertension artérielle 2

1.1.2) La radioautographie ultrastructurale 3

1.2) Problématique 6

1.2.1) Méthode actuelle 7

1.3) Définition du projet 9

1.4) Impacts du projet 12

1.5) Synthèse 13

CHAPITRE 2: L'ANALYSE INFORMATISEE D'IMAGES BIOLOGIQUES 15

2.1) Historique 15

2.2) Problèmes relatifs à la nature des images 19

2.2.1) Préparation des spécimens 19

2.2.2) Complexité des images 20

2.3) Les systèmes de traitement d'images microscopiques 22

2.4) Synthèse 26

CHAPITRE 3: EXPOSE DES TECHNIQUES D'IMAGERIE 27

PARTIE I - LA VISION PAR ORDINATEUR 28

3.1) Le traitement d'images 30

3.1.1) Techniques de réduction d'images 31

3.1.2) Techniques d'égalisation d'histogrammes 33

3.2) La reconnaissance de formes 37

3.2.1) L'extraction d'attributs 38

3.2.2) La sélection d'attributs 39

3.2.3) La classification 40

3.3) Synthèse 43

PARTIE II - L'ANALYSE DE TEXTURES 44

3.4) Mesures sur l'histogramme 44

3.5) Mesures sur l'histogramme des différences de paires de pixels 47

3.6) Mesures calculées à partir de la
matrice des longueurs de sections 49

3.7) Mesures calculées à partir de la matrice de co-occurences . . 55

3.8) Synthèse 63

CHAPITRE 4: MATERIEL ET METHODE 65

4.1) Système informatique et matériel biologique 65

4.1.1) Description du système utilisé 65

4.1.2) Matériel biologique 66

4.2) Acquisition des images 67

4.2.1) Biais introduit par le système de mesures 67

4.2.2) Réglage de l'intensité lumineuse 69

4.3) Pré-traitement des images: correction ponctuelle des luminances 71

4.4) Description des étapes de la méthode 72

4.4.1) Segmentation manuelle des organites 73

4.4.2) Réduction d'images et égalisation d'histogrammes . . . 74

4.4.3) Extraction des attributs texturaux 75

4.4.4) Classification 77

4.5) Méthodologie 81

4.6) Synthèse 83

CHAPITRE 5: RESULTATS ET DISCUSSION 84

PARTIE I - RESULTATS ET DISCUSSION PORTANT SUR LES QUATRES ETUDES 84

5.1) Procédure d'acquisition et de pré-traitement des images . . 84

5.2) Critères de sélection de la démarche optimale 84

5.3) Etablissement de la population 1 85

5.4) Présentation des résultats 86

5.5) Résultats et discussion portant sur l'étude 1 87

5.5.1) Comparaison globale des méthodes d'analyse de textures 92

5.5.2) Effet du nombre d'attributs 93

5.5.3) Effet du nombre de classes de niveaux de gris 93

5.5.4) Effet de la technique d'égalisation d'histogrammes . 94

5.5.5) Choix optimal 96

5.5.5.1) Nature des attributs 98

5.6) Résultats et discussion portant sur l'étude 2 103

5.7) Résultats et discussion portant sur l'étude 3 104

5.7.1) Effet de la distance d'analyse 104

5.7.2) Effet de l'orientation d'analyse 105

5.8) Synthèse 107

5.9) Etablissement de la population 2 107

5.10) Résultats et discussion portant sur l'étude 4 108

5.11) Démarche finale proposée 112

PARTIE II - DEVELOPPEMENTS FUTURS ET AMELIORATIONS PROPOSEES . . . 113

5.12) Développement d'une méthode semi-automatique 113

5.12.1) Variantes proposées 116

5.13) Développement d'une méthode automatique 117

5.13.1) Approche suggérée 117

5.14) Considérations générales 119

5.15) Conclusion 120

CHAPITRE 6: CONCLUSION 121

BIBLIOGRAPHIE 123

ANNEXE A Préparation du matériel biologique 131

ANNEXE B Statistiques des attributs extraits de la population 1 133

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1. Image radioautographique 5

Figure 3.1. Problème global de la vision par ordinateur 29

Figure 3.2. Le traitement d'images 30

Figure 3.3. La reconnaissance de formes 37

Figure 3.4. Matrice $P(nl,\theta)$ 50

Figure 3.5. Distribution de trois textures dans $p(nl,\theta)$ 53

Figure 3.6. Matrice $P(i/j,d,\theta)$ 56

Figure 3.7. Eléments de p_{x-y} et de p_{x+y} 58

Figure 3.8. Distribution de trois textures dans $p(i/j,d,\theta)$ . . . 63

Figure 4.1. Organigramme des étapes de notre projet 80

Figure 5.1. Convention adoptée pour la présentation des résultats 86

Figure 5.2. Organigramme de la méthode semi-automatique 114

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1. Principaux projets d'imagerie des années 1960 17

Tableau 2.2. Liste de quelques systèmes commerciaux 25

Tableau 4.1. Modes d'utilisation des méthodes d'analyse de textures du premier et du deuxième ordres 76

Tableau 4.2. Nombre de combinaisons à évaluer selon la méthode utilisée et le nombre d'attributs considérés 78

Tableau 5.1. Résultats des mesures sur l'histogramme 88

Tableau 5.2. Résultats des mesures sur l'histogramme basé sur la différence de paires de pixels 89

Tableau 5.3. Résultats de la méthode des matrices des longueurs de sections 90

Tableau 5.4. Résultats de la méthode des matrices de co-occurrences 91

Tableau 5.5. Performances individuelles des attributs de la méthode de co-occurrences 99

Tableau 5.6. Meilleures combinaisons obtenues en fonction du nombre d'attributs considérés 101

Tableau 5.7. Comparaison des techniques de réduction 103

Tableau 5.8. Comparaison des performances du trio MC7-MC8-MC13 en fonction de la distance d'analyse 104

Tableau 5.9. Comparaison des moyennes et des déviations standards du paramètre MC12 en fonction de l'orientation d'analyse pour les trois types d'organites 106

Tableau 5.10. Comparaison de la robustesse de la démarche finale selon les trois techniques de réduction 108

Tableau 5.11. Résultats de classification obtenus en fonction du nombre de voisins 110

Tableau 5.12. Présentation détaillée des résultats de classification 111

LISTE DES SYMBOLES

c	valeur d'intensité lumineuse de l'éclairement uniforme.
C	matrice de covariance des attributs de la population d'entraînement.
d	distance d'analyse.
D	distance de Mahalanobis.
DPP1 à DPP4	paramètres extraits des histogrammes basés sur la différence de paires de pixels séparés d'une distance spécifique selon une orientation donnée.
e(x,y)	matrice de correction ponctuelle des luminances selon la position (x, y) du pixel dans l'image.
$e_c(x,y)$	matrice de correction ponctuelle des luminances calculée à partir d'une scène d'éclairement uniforme **c** suivant la position (x, y) du pixel dans l'image.
E	énergie de la distribution.
f(x,y)	niveaux d'éclairement réel de la scène en fonction de la position (x, y) du pixel.
g(x,y)	niveaux de luminance fournis par la caméra selon la position (x, y) du pixel.
$g_c(x,y)$	réponse de la caméra à un éclairement uniforme **c**, selon la position (x, y) du pixel.
H(n)	histogramme normalisé.
$H(n,d,\theta)$	histogramme normalisé basé sur la différence de paires de pixels séparés d'une distance spécifique **d** selon une orientation donnée **θ**.
i,j	valeurs de luminance.
k	nombre de voisins (classificateur).
l	longueur d'une section.
L	longueur maximale des sections.

m	dimension de la fenêtre d'analyse.
M	nombre de pixels dans l'image.
MC1 à MC15	paramètres extraits des matrices de co-occurrences.
n	valeur d'intensité du niveau de gris.
N	nombre de niveaux de gris ou de classes de niveaux de gris dans l'image.
N(n)	histogramme.
N(n,d,θ)	histogramme basé sur la différence de paires de pixels séparés d'une distance **d** selon une orientation donnée **θ**.
NUL	non-uniformité des longueurs de sections.
NUN	non-uniformité des niveaux de gris.
p(i/j,d,θ)	matrice P(i/j,d,θ) normalisée.
p(nl,θ)	matrice P(nl,θ) normalisée.
P(i/j,d,θ)	matrice contenant les occurrences des pixels de niveaux de gris **i** localisés à une distance **d** du niveau de gris **j** selon une orientation donnée **θ**.
P(nl,θ)	matrice contenant le nombre d'apparitions de sections de niveau de gris **n** et de longueur **l** selon une orientation donnée **θ** dans l'objet.
p(z)	histogramme de l'image de départ.
q(z)	histogramme cible.
R(n)	histogramme uniforme.
RSC	richesse en sections courtes.
RSL	richesse en sections longues.
Σ	moyenne des quatre directions d'analyse.
t	vecteur moyen des attributs de la population d'entraînement
TS	taux de sections.
θ	angle d'analyse.

μ_1	densité optique moyenne.
μ_2	variance.
μ_3	dissymétrie.
μ_4	applatissement.
x	vecteur des attributs de l'objet à classifier.

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

1.1) Contexte clinique

La recherche en biologie cellulaire se concentre depuis quelques années dans l'analyse de la liaison, de l'internalisation et de la transformation des molécules qui entrent en contact avec les cellules. Ces études ont démontré que la cellule peut choisir, dans son milieu extérieur, différents types de molécules. Celles-ci se lient à des protéines de surface, soit pour être internalisées et acheminées vers une localisation intracellulaire spécifique afin de provoquer un effet précis avant d'être dégradées, soit pour induire un effet à l'intérieur de la cellule (sans y pénétrer) via des macromolécules membranaires que l'on appelle récepteurs.

L'étude de ces mécanismes intéresse, entre autres, les pathobiologistes qui cherchent à déterminer le rôle respectif de certaines substances biochimiques telles que les hormones peptidiques (ACTH, ANF, insuline, ...) ou autres (catécholamines, stéroïdes, ...). Actuellement, les substances impliquées dans le problème de

l'hypertension artérielle font l'objet de plusieurs travaux de recherche[1]. Une meilleure connaissance des mécanismes impliqués dans la régulation de la tension artérielle, aux niveaux cellulaire et moléculaire, permettrait alors d'envisager de nouvelles approches thérapeutiques pour remédier au fléau actuel qu'est l'hypertension.

1.1.1) L'hypertension artérielle

De nos jours, dans les pays de civilisation occidentale, l'hypertension artérielle est la principale cause de maladie et de mortalité[2]. Les gens qui souffrent de cette affection sont sujets à des accidents cérébraux vasculaires et à des insuffisances cardiaques et/ou rénales.

Les causes de l'hypertension dite essentielle soulèvent encore beaucoup d'interrogations parmi les chercheurs. Ils s'entendent cependant pour dire que l'hypertension s'accompagne souvent d'une rétention disproportionnée de sel (Na^+) par l'organisme. En effet, une réabsorption sodée au niveau du rein entraîne une augmentation du volume plasmatique, laquelle crée une augmentation des pressions veineuses et intracardiaques, ainsi qu'une accélération du débit cardiaque et une hausse de la pression sanguine artérielle.

Il est bien connu que le rein est l'organe régulateur du taux de sel dans le sang puisqu'il contrôle l'excrétion et la réabsorption

sodée. De plus, certaines substances sont reconnues pour leur rôle dans la régulation des mécanismes de la réabsorption sodée. Par exemple, l'angiotensine II agit, entre autres, sur la glande surrénale (par l'intermédiaire de ses récepteurs) pour induire la synthèse et la libération de l'aldostérone dans la circulation sanguine, laquelle ira ensuite stimuler de manière spécifique la réabsorption de sodium par le tubule distal du rein.

Les chercheurs s'intéressent tant aux domaines de liaison de ces substances et à leur cheminement intracellulaire (s'il y a lieu) qu'aux mécanismes impliqués dans leur dégradation et leur élimination. Pour procéder à de telles études, ils ont recours à une technique appelée la radioautographie ultrastructurale.

1.1.2) La radioautographie ultrastructurale

La radioautographie, technique introduite dans les laboratoires en 1956, consiste à marquer chaque molécule de la substance étudiée à l'aide d'un ou de plusieurs atomes radioactifs (radio-isotopes). Après administration de la substance marquée, on peut suivre sa migration dans les tissus ou à l'intérieur des différents compartiments cellulaires en détectant la radioactivité émise.

Les traceurs radioactifs sont mis en évidence grâce à leur effet sur une émulsion photographique spéciale appelée émulsion nucléaire.

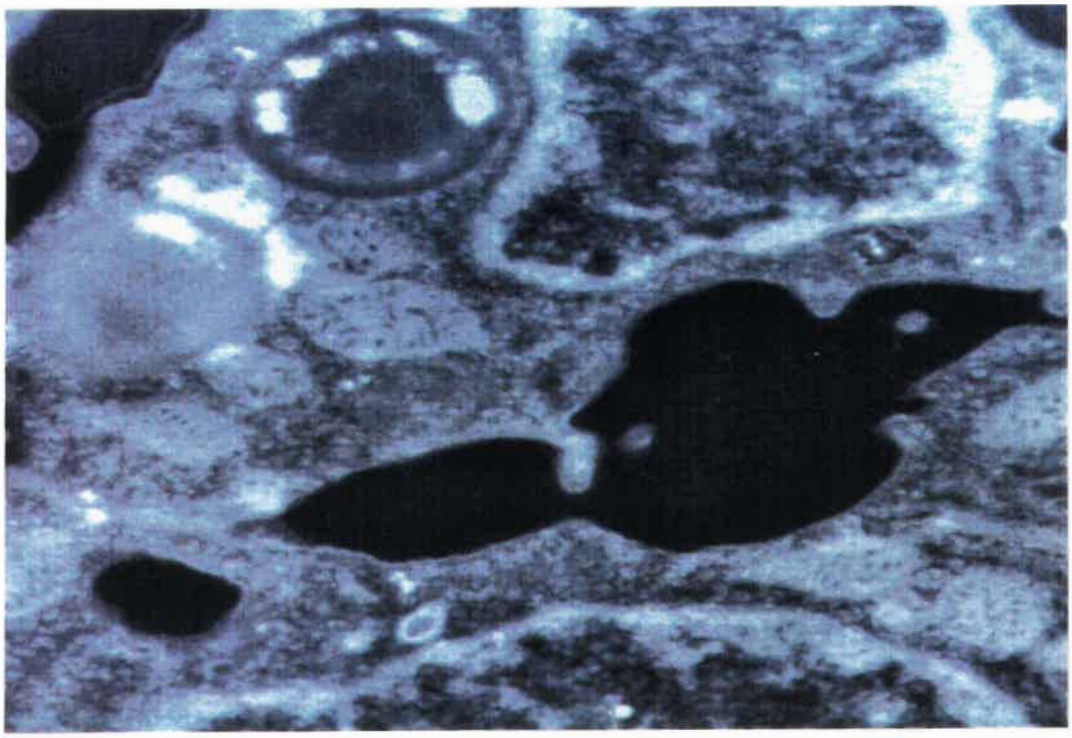
Pour ce faire, on recouvre la coupe de tissu avec l'émulsion qui s'ionise par le rayonnement. Après un temps d'exposition adéquat, on développe le radioautogramme qui apparaît alors comme une accumulation de grains d'argent se superposant aux zones radioactives contenues dans la coupe de tissu. Les grains d'argent ainsi formés permettent donc de localiser les molécules de la substance d'intérêt dans le tissu.

La radioautographie est une technique quantitative puisque le nombre de grains d'argent produits est proportionnel à la quantité de radio-isotopes présents dans le tissu. Leur nombre total dépend aussi de la durée d'exposition de l'émulsion photographique à la source de radioactivité.

La figure 1.1 est une image radioautographique obtenue par microscopie électronique à balayage. Elle représente une coupe d'une région de la glande surrénale d'un rat, grossie environ vingt mille fois. On peut constater la présence des grains d'argent, témoins de la substance à l'étude dans cette expérience, à savoir l'angiotensine II marquée avec de l'Iode^{125} (un émetteur de particules gamma).

Sur cette figure, nous pouvons voir deux cellules, l'espace intercellulaire qui les sépare et les détails de l'ultrastructure cellulaire[3]. On peut constater que chaque cellule est constituée d'organites, tels qu'un noyau, des mitochondries et des gouttelettes de lipides.

a)



b)

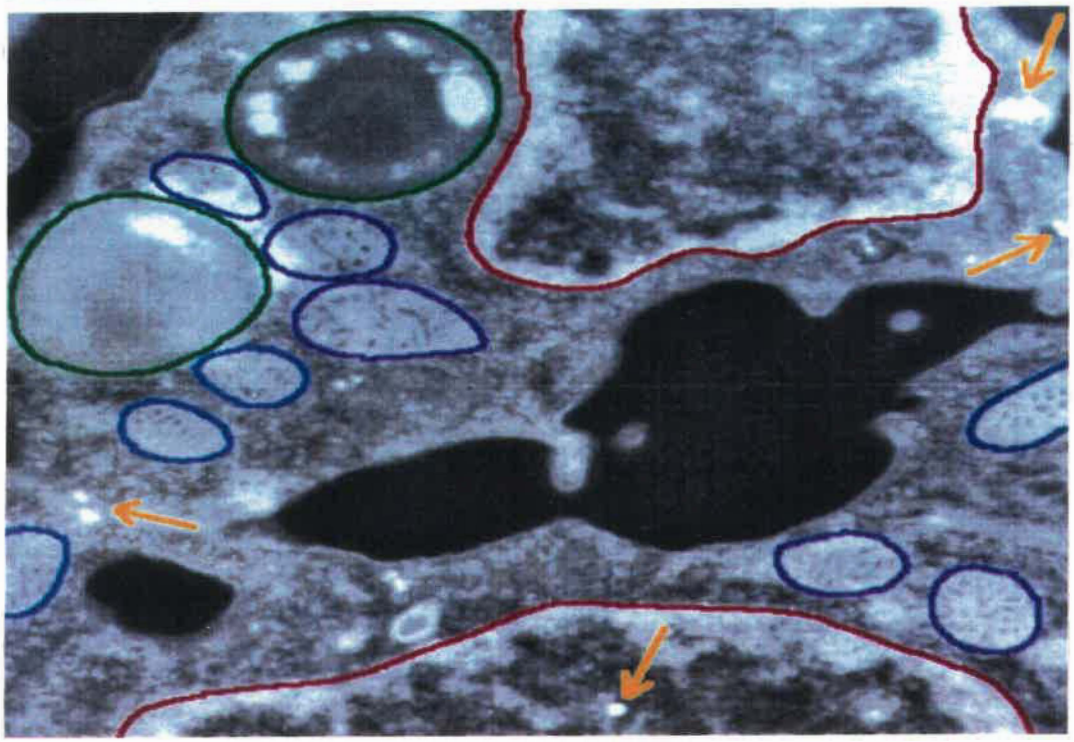


Figure 1.1. a) Image radioautographique.
b) Identification des grains d'argent (flèches jaunes) et des différents types d'organites cellulaires:
- rouge: noyaux;
- vert : gouttelettes de lipides;
- bleu : mitochondries.

La technique radioautographique, couplée à la microscopie électronique, constitue un outil puissant pour étudier la répartition des molécules à la surface des cellules et leur concentration dans des structures intracellulaires. Un exemple des mesures qui peuvent être effectuées sur les images radioautographiques est présenté à la section suivante.

1.2) Problématique

Dans le but de découvrir vers quels organites cellulaires une substance migre, les expérimentateurs procèdent à des études temporelles en constituant une série d'images obtenues à différents moments après l'administration de la substance marquée. En observant la redistribution des grains d'argent en fonction du temps, on peut constater la migration des molécules à l'intérieur des cellules et en déduire leur tendance à se diriger vers des organites spécifiques.

Ces études, basées sur des analyses statistiques, requièrent une grande quantité d'images pour pouvoir en tirer une conclusion significative; une expérience peut en effet exiger le traitement d'environ cinq cents images.

L'essentiel du traitement consiste à **mesurer le nombre de grains d'argent par unité de surface pour chacune des classes d'organites cellulaires.** Un résultat typique pourrait s'énoncer comme suit:

cinq grains d'argent associés aux mitochondries, lesquelles couvrent 30% de la surface totale de l'image.

Pour effectuer de telles mesures, il faut, d'une part, évaluer la superficie relative de chacune des classes d'organites présentes dans l'image et, d'autre part, associer les grains d'argent aux structures environnantes.

1.2.1) Méthode actuelle

En général, la plupart des mesures sont faites manuellement et font appel à des méthodes stéréologiques[4,5]. Ces méthodes permettent la dérivation directe des propriétés métriques des structures tridimensionnelles basées sur un raisonnement géométrico-statistique.

Dans un premier temps, rappelons-le, il s'agit d'évaluer la superficie relative occupée par les différentes classes d'organites cellulaires. Pour ce faire, on superpose à l'image originale une grille dont la grosseur de la maille est fonction du plus petit objet à mesurer. En balayant la grille de façon méthodique, on compile pour chacune des intersections le type de structure sous-jacente présente dans l'image. Lorsque toutes les intersections ont été considérées, on effectue la somme des apparitions pour chacune des catégories d'organites. Les résultats sont alors reportés dans une formule qui fournit une approximation de la surface respective des différents types

de structures.

En second lieu, afin d'associer les grains d'argent aux structures environnantes, on utilise fréquemment la méthode de Williams[6,7]. Celle-ci consiste à tracer un cercle de rayon prédéterminé autour de chacun des grains et à relever les structures présentes à l'intérieur.

L'utilisation d'un cercle de probabilité découle du manque de résolution de la méthode radioautographique[8]. En effet, la résolution est limitée à la fois par des facteurs géométriques (épaisseur de la coupe de tissu et de l'émulsion, densité, énergie et type de radio-isotopes) et par le processus photographique (diamètre des cristaux de bromure d'argent et du grain d'argent développé). Il s'ensuit que le grain d'argent n'apparaît pas nécessairement à l'endroit précis où la substance marquée se situe. Le rayon du cercle est donc établi de façon à ce qu'il contienne dans ses limites le site radioactif responsable de la formation du grain d'argent.

Cette méthode d'évaluation s'avère longue et laborieuse puisque, pour chacune des cinq cents images d'une expérience, on doit répéter les opérations suivantes:

1) superposer une grille et considérer toutes les intersections pour l'évaluation de la surface;

2) tracer des cercles autour de tous les grains d'argent et noter les structures incluses.

Cette méthode, dont la réalisation nécessite quelques semaines de travail, est sujette aux erreurs humaines dues à la fatigue. De plus, une fois les données recueillies, l'analyse de celles-ci demandent encore plusieurs heures de travail fastidieux.

1.3) Définition du projet

L'analyse informatisée d'images présente un potentiel intéressant pour l'élaboration d'une méthode conviviale, rapide et fiable de cueillette et de traitement des données. A ces avantages, s'ajoute un aspect pratique. Pour faire les mesures, les pathobiologistes doivent actuellement agrandir et développer des photos à partir des négatifs obtenus du microscope électronique. Cette étape, longue et coûteuse, pourrait être éliminée grâce à la méthode proposée. En effet, avec un système d'analyse d'images, on peut travailler directement à partir des négatifs si l'on utilise un système adéquat d'illumination par transmission et une caméra munie d'une lentille agrandissante.

La méthodologie informatique requise pour la résolution du problème exposé comporte les cinq étapes suivantes:

1) segmenter les organites cellulaires dans l'image;
2) reconnaître les différents organites en présence;
3) évaluer leur superficie;
4) segmenter les grains d'argent;
5) associer les grains d'argent aux organites environnants par la méthode des cercles de probabilité.

Etant donné la complexité des images radioautographiques, nous démontrons dans ce mémoire que le facteur limitatif, dans l'optique d'une automatisation "complète" de la méthode, se situe au niveau de la segmentation des organites cellulaires. La segmentation, procédé par lequel on extrait les contours des objets ou les limites des régions dans une scène, constitue en effet un problème majeur en vision par ordinateur[9,10,11].

L'alternative considérée pour ce projet est le développement d'une méthode semi-automatique où l'étape cruciale de segmentation des organites cellulaires est effectuée de façon manuelle. Le défi, dans ce cas, est d'identifier les différentes structures biologiques en présence au moyen de méthodes de reconnaissance de formes (extraction et sélection d'attributs, classification).

Le but du projet consiste donc à étudier les outils offerts par la vision par ordinateur afin de dégager ceux qui permettraient une éventuelle automatisation ou semi-automatisation de l'analyse d'images

radioautographiques. En particulier, nous nous intéressons aux deux premières étapes mentionnées ci-haut, soit la segmentation et la reconnaissance des organites cellulaires, puisqu'elles suscitent un intérêt scientifique certain.

L'objectif principal de ce projet consiste, d'une part, à développer un outil interactif de segmentation et, d'autre part, à comparer quatre méthodes d'analyse de textures pour caractériser et classifier d'une façon automatique trois types d'organites cellulaires, à savoir le noyau, les mitochondries et les gouttelettes de lipides, lesquels occupent la majeure partie de l'espace cellulaire.

Compte tenu que les performances des méthodes d'analyse de textures sont influencées par les techniques de pré-traitement d'images (réduction d'images, égalisation d'histogrammes) et par certains paramètres (nombre de classes de niveaux de gris, distance et orientation d'analyse, nombre et choix des attributs texturaux requis pour effectuer la classification), nous nous sommes fixés comme objectif secondaire d'évaluer l'impact de ces facteurs dans le but d'optimiser la démarche globale.

Pour atteindre les objectifs visés, nous utilisons un classificateur dont les résultats permettent de comparer les performances des méthodes d'analyse de textures, de sélectionner les attributs les plus discriminants et de constater l'influence des

facteurs mentionnés ci-haut.

1.4) Impacts du projet

Il est important de réaliser que les trois dernières étapes de la méthode informatisée ne sont pas traitées dans ce mémoire puisqu'elles ne comportent essentiellement aucun problème majeur. L'aspect lié à la segmentation automatique des grains d'argent est toutefois traité. Nous verrons qu'il est possible, par simple seuillage de l'histogramme, de les extraire de l'image puisqu'ils présentent un bon contraste par rapport à la coupe cytologique.

Ainsi, l'atteinte de nos objectifs conduirait, dans un premier temps, à une méthode semi-automatique où la présence de l'usager ne serait requise que pour définir les contours des objets dans l'image; cette étape pouvant s'effectuer rapidement grâce à un outil interactif de segmentation qui ne requiert le positionnement que de quelques repères situés sur le contour de l'objet. Ensuite, les organites seraient classifiés grâce aux attributs texturaux que nous aurons déterminés comme étant les plus discriminants, et l'on pourrait finalement procéder au reste de l'analyse, soit la prise de mesures.

Dans un deuxième temps, les paramètres de textures les plus discriminants pourraient servir de connaissances à priori pour tenter de segmenter d'une façon automatique les organites cellulaires. En

effet, l'analyse de textures ne sert pas uniquement à caractériser et à classifier mais aussi à effectuer la segmentation. La résolution des deux premiers problèmes étant essentielle à la résolution du troisième, on comprend mieux l'importance de notre projet.

1.5) Synthèse

Les chercheurs en biologie cellulaire s'intéressent à étudier la liaison, l'internalisation et la dégradation de certaines molécules qui entrent en contact avec les cellules. La technique utilisée pour effectuer de telles études est la radioautographie ultrastructurale qui, couplée à la microscopie électronique, permet de quantifier et de localiser la présence de substances biochimiques à la surface ou à l'intérieur des cellules.

L'analyse des images radioautographiques par des méthodes manuelles est longue et par conséquent sujette aux erreurs. L'objectif principal de ce projet consiste à comparer quatre méthodes d'analyse de textures afin de sélectionner des paramètres efficaces pour caractériser et classifier les organites cellulaires contenus sur des clichés obtenus par radioautographie ultrastructurale. Ces paramètres, une fois identifiés, pourront être utilisés pour l'élaboration d'une méthode semi-automatique d'analyse d'images et permettront d'envisager l'automatisation complète de celle-ci.

Ce travail se divise essentiellement en quatre parties. Le chapitre 2 fait un bref historique des applications de l'analyse informatisée d'images en biologie, traite des problèmes relatifs à la complexité des images et présente certains systèmes d'analyse d'images disponibles sur le marché. L'exposé des techniques d'imagerie fait l'objet du chapitre 3 et couvre le traitement d'images, la reconnaissances de formes ainsi que l'analyse de textures. Au chapitre 4, on décrit le système informatique et le matériel biologique utilisés ainsi que la méthodologie proprement dite de notre projet. Finalement, les résultats sont présentés et discutés au chapitre 5.

CHAPITRE 2

L'ANALYSE INFORMATISEE D'IMAGES BIOLOGIQUES

En biologie, l'observation de spécimens microscopiques est à la base de toutes les étapes du processus d'analyse et de dépistage. Etant donné la grande quantité d'images à traiter et l'aspect routinier lié à ces observations, l'analyse informatisée d'images offre un potentiel intéressant comme outil de recherche dans les laboratoires. C'est pourquoi on la retrouve donc de plus en plus dans des domaines tels que la cytologie quantitative, la cytogénétique, l'hématologie, l'histologie, la neurologie, la virologie, ...

2.1) Historique

Les travaux effectués en analyse d'images microscopiques ont fait l'objet de plusieurs publications. Citons, entre autres, les contributions de Preston[12,13,14,15,16], Mize[17], Bradbury[18,19], les recueils de résumés de conférences édités par Mayall[20,21,22,23] et les livres de Evans[24], Wied et al[25], Koss et Coleman[26], Preston et Onoe[27], Chermant[28], Pressman et Wied[29], Onoe et al.[30] et Baak[31]. En particulier, soulignons le travail remarquable

de Preston et Bartels[12] qui, en 1988, ont fait une revue exhaustive des travaux concernant l'automatisation de l'analyse d'images cytologiques et histologiques. Cette revue, qui couvre les trois dernières décennies, comporte environ 800 références.

Nous mentionnons ici les étapes déterminantes de l'automatisation en microscopie ainsi que les principaux domaines d'application. Pour plus de détails, le lecteur peut se référer à la revue de Preston et Bartels[12], d'où ces informations sont extraites.

Le premier analyseur d'images, apparu dans les années 1950 sous le nom de CYTOANALYZER-1, avait pour but de distinguer de façon automatique les cellules malignes des cellules normales dans les frottis vaginaux (test PAP). Ce projet de recherche prit fin six ans plus tard avec un constat d'échec relié principalement au manque de standardisation des méthodes de préparation cytologique qui rendait la tâche de reconnaissance très complexe.

L'avènement des semi-conducteurs au cours des années 60, rendant accessible l'implantation d'analyseurs d'images dans les laboratoires, a eu pour effet de révolutionner la microscopie. Notons toutefois qu'à cette époque, ces analyseurs étaient essentiellement des systèmes de développement. Les principaux projets de cette décennie sont résumés au tableau 2.1; mentionnons que les domaines d'application qui y sont cités font encore aujourd'hui l'objet de travaux de recherche.

PROJETS	DOMAINES D'APPLICATION
CELLSCAN (1962)	reconnaissance et comptage des leucocytes du sang
CYTOANALYSER II (1963)	classification des cellules des frottis vaginaux
CYDAC (1968)	dosage microphotométrique de l'ADN au sein des noyaux cellulaires et reconnaissance de chromosomes en vue du caryotype humain
BIOSCAN (1968)	reconnaissance de chromosomes en vue du caryotype humain

Tableau 2.1. Principaux projets d'imagerie des années 1960.

Jusqu'aux années 70, les travaux en analyse d'images se concentraient surtout sur l'analyse de cellules isolées (globules rouges et blancs, colonies bactériennes ou cellulaires, etc.). Par la suite, les progrès des techniques d'imagerie, en particulier en matière de segmentation, ont permis d'analyser des scènes plus complexes telles que les images histologiques (muscles, glande thyroïde, foie, fibres myocardiques, cerveau, rétine, etc.).

Les années 70 ont vu l'émergence des premiers systèmes commerciaux dédiés à l'analyse automatique d'échantillons sanguins (HEMATRAK, LARC, DIFF3, ADC-500) ainsi que de plusieurs systèmes généraux d'analyse d'images. Depuis, les systèmes de traitement d'images se sont

largement répandus dans les laboratoires. En effet, les réductions considérables de coût, découlant de l'avènement des circuits intégrés, ont rendu de plus en plus accessible l'achat de systèmes informatiques. Malheureusement, l'automatisation n'a pas évolué au même rythme, à cause des difficultés relatives à la complexité des images traitées.

Nous constatons que les travaux et les domaines d'application de l'analyse d'images en microscopie sont nombreux. Il est par contre décevant de réaliser que très peu de systèmes automatiques ont réussi à atteindre les laboratoires cliniques et ce, après 25 ans de travaux soutenus. Il faut néanmoins réaliser qu'il existe sur le marché des systèmes spécialisés permettant l'automatisation de certaines étapes du processus de traitement d'images microscopiques. Citons, entre autres, en cytogénétique, des machines spécialisées dans la recherche des cellules en métaphase (EIDOMAT) qui enlèvent l'aspect fastidieux de leur localisation et qui laissent au technologiste la tâche de l'interprétation (détermination du caryotype). Un prototype pour analyser les frottis vaginaux est aussi fonctionnel mais n'est pas encore en production.

De plus, il existe plusieurs systèmes généraux de traitement d'images qui sont pour la plupart des systèmes interactifs. Ces systèmes fournissent à l'usager un ensemble de fonctions de base en traitement d'images et des modules d'extraction de paramètres (géométriques, topométriques, densitométriques et de texture). La

description de ces systèmes fait l'objet de la section 2.3.

Finalement, mentionnons qu'en microscopie, on retrouve le plus souvent des systèmes semi-automatiques dédiés à une application particulière, développés et utilisés d'une façon restreinte dans les laboratoires de recherches. Notre système en est un exemple.

2.2) Problèmes relatifs à la nature des images

2.2.1) Préparation des spécimens

Un des obstacles à l'automatisation de l'analyse d'images microscopiques provient du manque de standardisation des méthodes de préparation du matériel biologique[12,18,19]. En effet, la façon dont les spécimens sont traités (mécaniquement et chimiquement), avant l'examen, introduit souvent des variations visuelles significatives d'une expérience à l'autre ou, pis encore, entre les échantillons d'une même expérience. La méthodologie relative à la préparation des spécimens de notre projet, telle que décrite par Bianchi[32], est résumée à l'annexe A. On y souligne les manipulations qui influencent la qualité des images et les répercussions qu'elles entraînent, à savoir:

- présence d'artefacts, tels que déchirures de la coupe, poussières et résidus;

- images de teintes différentes et/ou variations de contraste à l'intérieur d'une même image.

2.2.2) Complexité des images

Une image constituée de structures biologiques est complexe à cause de plusieurs facteurs, dont notamment:

- la variabilité géométrique des éléments d'une même classe;
- le manque de contraste spécifique des différents composants;
- le manque de contraste en bordure des objets (frontières mal définies).

Ces facteurs entraînent des problèmes sérieux au niveau de la reconnaissance des structures biologiques, surtout si l'on considère une approche par segmentation automatique.

Même en considérant des composants cellulaires appartenant à une même classe, on peut observer une grande variabilité des paramètres morphométriques. De plus, l'observation de coupes accentue ce problème. En effet, le fait de sectionner une structure tridimensionnelle peut conduire à une multitude de formes différentes associées au même objet.

Un problème secondaire, mais non négligeable, est lié aux

structures en bordure de scène puisque celles-ci sont incomplètes. Dans le cas où elles ne représentent qu'un faible pourcentage des structures à analyser, on peut choisir de les ignorer. Par contre, ceci n'est pas possible avec les images de notre projet puisqu'il n'y a pas beaucoup de composants au départ. En effet, le fort grossissement utilisé pour permettre une analyse ultrastructurale fait en sorte qu'il y a peu d'éléments par image et que ceux-ci sont souvent incomplets.

L'ensemble des facteurs cités, affectant la géométrie des objets, empêche donc l'utilisation des méthodes de segmentation, telles que le "matching", et limite dans le choix des attributs pour effectuer la classification. En effet, l'usage d'attributs géométriques est à rejeter.

En observant la figure 1.1, on peut voir que plusieurs types d'organites sont formés de niveaux de gris similaires. Ce manque de contraste spécifique des différents constituants de l'image rend par conséquent inadéquates les techniques de segmentation par seuillage.

Le manque de définition des frontières des objets et la complexité de l'image posent sans doute le plus gros problème à la segmentation. En effet, il serait inutile de considérer les techniques de détection de contours comme outil à la segmentation. Si ce n'était qu'un manque de définition des frontières, on pourrait utiliser des filtres qui détectent les gradients dans l'image et les combiner ensuite à des

techniques de relaxation ou de programmation dynamique pour compléter les bribes de contours détectés. Cependant, le haut taux de variation des intensités dans les images rend impossible l'usage de ces détecteurs, puisqu'ils génèrent des "contours" à tous les endroits qui présentent des transitions. On ne peut pas alors distinguer ces faux contours de ceux délimitant les objets d'intérêt.

Les grains d'argent obtenus par radioautographie présentent aussi des difficultés d'analyse, puisqu'ils n'ont pas toujours la même géométrie et que, de plus, ils peuvent être agglomérés. Dans certains cas, ces agglomérations s'apparentent aux artefacts, compliquant ainsi leur identification. Finalement, ces grains causent un problème au moment de l'analyse des composants cellulaires car, superposés au tissu, ils masquent localement les structures d'intérêt.

La section suivante termine l'exposé sur la situation actuelle de la recherche dans ce domaine et présente les systèmes disponibles sur le marché en regard de notre application.

2.3) Les systèmes de traitement d'images microscopiques

Rappelons tout d'abord que les lignes directrices de l'approche informatisée sont: la segmentation et la reconnaissance des organites cellulaires, l'évaluation de leur surface, la segmentation des grains d'argent et l'application de la méthode des cercles de probabilité.

Avant de décrire les systèmes couramment utilisés dans les laboratoires, définissons les critères de sélection de notre système.

Le choix d'un système informatique doit répondre aux exigences suivantes:

- permettre la résolution des étapes du projet mentionnées ci-haut;
- permettre une éventuelle automatisation;
- être un système programmable pouvant s'adapter aux besoins sans cesse changeants des utilisateurs;
- être à la portée des budgets des laboratoires.

Les techniques manuelles utilisées en morphométrie sont la planimétrie et la stéréologie. Plusieurs systèmes commerciaux, inspirés de ces techniques, offrent un soutien informatique à la prise de ces mesures. On peut distinguer deux grandes classes de systèmes qui permettent la morphologie quantitative: les systèmes qui n'utilisent pas les techniques de traitement d'images et ceux qui y font appel.

Les systèmes n'utilisant pas de techniques de traitement d'images se divisent en deux catégories: les tables numérisantes (planimétrie assistée par ordinateur) et les systèmes vidéo (planimétrie et stéréologie assistées par ordinateur). Ces systèmes ne peuvent être considérés dans une optique d'automatisation puisqu'ils sont

essentiellement des outils qui doivent être manipulés par un opérateur. De plus, ils ne permettent d'effectuer que l'étape de morphologie quantitative. Ces systèmes présentent néanmoins un avantage sérieux, en terme de temps d'analyse, sur les techniques entièrement manuelles.

D'autre part, il existe des systèmes d'analyse d'images commerciaux qui sont d'usage général et interactif. Ils fournissent à l'usager un ensemble de fonctions de base pour le traitement des images. Par contre, ces fonctions ne sont pas assez spécialisées (dédiées) pour résoudre notre problème et on ne peut pas toujours les programmer car, bien souvent, ces systèmes sont "fermés". Notons que leur coût d'achat est relativement élevé, soit de l'ordre de $50K à $150K. On retrouve, au tableau 2.2, le nom de quelques systèmes commerciaux représentant les trois classes que nous venons de traiter.

Puisqu'il n'existe pas de système dédié à notre application, il faut alors utiliser un système programmable. Certains des systèmes présentés répondent à nos critères puisqu'ils offrent la versatilité recherchée, mais sont dispendieux et dépassent largement nos besoins.

Nous avons donc opté pour un système de traitement d'images de base (ordinateur, caméra, carte et moniteur vidéo) d'un coût de l'ordre de $20K. Cette approche offre la versatilité désirée, permettant éventuellement d'ajouter des fonctions et de modifier les logiciels pour les adapter aux besoins des usagers.

	SYSTEMES	MANUFACTURIERS
SYSTEMES DE NUMERISATION AVEC TABLE	LADD 4000	Ladd Research Industries
	MICROPLAN	Laboratory Computer Sys
	MOP-30	Carl Zeiss inc.
	NUMONICS 1224EM	Numonics Corporation
	OPTOMAX	Optomax inc.
SYSTEMES DE NUMERISATION VIDEO	BIOQUANT	R&M Biometrics
	OPTOMAX	Optomax inc.
	SMI UNICOMP	Southern Micro. Industries
	VIDEOPLAN	Carl Zeiss inc.
SYSTEMES D'ANALYSE D'IMAGES	BIO VISION	Perceptics
	IBAS	Carl Zeiss inc.
	LEITZ TAS +	Ernst Leitz inc.
	MAGISCAN II	Nikon inc.
	MORPHO PERICOLOR	Numelec
	NS-15000	Nachet-Sopelem
	OMNICOM 3000	Baush and Lomb
	QUANTIMET 900-920	Cambridge Instruments
	SAMBA 4000	Dynatech Laboratories inc.
	TN 5700 - 8500	Tracor Northern

Tableau 2.2. Liste de quelques systèmes commerciaux.

2.4) Synthèse

L'analyse de la situation actuelle, en matière d'automatisation du traitement des images biologiques, fait ressortir que les principales difficultés rencontrées sont liées au manque de standardisation lors de la préparation des spécimens biologiques ainsi qu'à la complexité des images traitées. Pour faire face à cette situation et pour répondre aux besoins sans cesse changeants des biologistes, un système programmable doit donc être utilisé.

Le chapitre suivant se divise en deux parties, soit la vision par ordinateur et l'analyse de textures. La première partie, plus générale, a pour but de définir la terminologie utilisée en vision par ordinateur et de donner un bref aperçu des techniques de traitement d'images et de reconnaissance de formes. La deuxième partie traite spécifiquement de l'analyse de textures qui s'avère être l'outil le plus prometteur en vision artificielle. En particulier, nous y présentons quatre méthodes qui serviront à caractériser et à classifier les organites cellulaires préalablement segmentés au moyen d'un outil interactif.

CHAPITRE 3

EXPOSE DES TECHNIQUES D'IMAGERIE

Un des grands défis du monde scientifique est de concevoir un ordinateur à l'image de l'homme: un robot capable de voir, d'entendre, de parler, de se mouvoir et de réfléchir... En parallèle avec les progrès technologiques en matière d'électronique, qui ont donné naissance à des ordinateurs de plus en plus puissants, sont apparus de nouveaux secteurs de recherche, tels que le traitement de la parole, la vision par ordinateur, la robotique et l'intelligence artificielle.

Le problème commun à ces disciplines récentes consiste à comprendre les mécanismes permettant à l'homme d'accomplir des tâches qui nous semblent automatiques, mais qui sont pourtant le fruit d'un long apprentissage. Il n'est donc pas surprenant de constater que des chercheurs de différents domaines, tels que les psychologues, les neurologues, les anatomistes, les mathématiciens, les ingénieurs et les informaticiens unissent leurs efforts pour analyser et développer des systèmes imitant le fonctionnement de l'incroyable machine humaine.

PARTIE I - LA VISION PAR ORDINATEUR

La vision par ordinateur est une discipline jeune et en pleine effervescence. Il suffit de consulter les monographies de Rosenfeld (publiées annuellement dans Computer Graphics and Image Processing, depuis 1975) pour constater la quantité et la diversité des travaux en cours dans ce domaine. En 1989[34], ce recueil comptait mille cinq cents parutions.

Les applications de la vision par ordinateur sont variées et touchent la reconnaissance d'écritures, l'identification d'empreintes digitales, le contrôle industriel de la qualité, l'assemblage automatisé, le domaine biomédical, la télédétection, l'identification des trajectoires des particules en physique atomique, l'astronomie, les applications militaires, etc.

Actuellement, la vision par ordinateur ne possède pas de bases théoriques et pratiques communes à tous ces domaines. En général, les systèmes d'analyse d'images sont dédiés à une application particulière et utilisent, parmi les nombreuses techniques disponibles, celles qui permettent de résoudre le plus efficacement le problème en cours. Il n'existe donc pas de standard établi et **le défi de l'analyse d'images réside dans le choix pertinent des techniques permettant d'atteindre le but recherché en fonction du type d'images à analyser.** Nous sommes donc loin d'un système de vision par ordinateur qui, comme notre

système visuel, pourrait résoudre plusieurs problèmes différents...

Le but premier de la vision par ordinateur est d'organiser, sous forme structurée, l'énorme quantité d'informations implicitement contenues dans les images.

Une image est le plus souvent représentée par une matrice de pixels caractérisés par leur position et leur intensité. Il faut donc analyser ces pixels dans le but d'extraire les objets de l'image et de les reconnaître pour éventuellement prendre des mesures sur ceux-ci.

Le problème global de la vision par ordinateur est illustré à la figure 3.1. D'une façon générale, on peut diviser le processus en deux modules soit, le traitement d'images et la reconnaissance de formes.

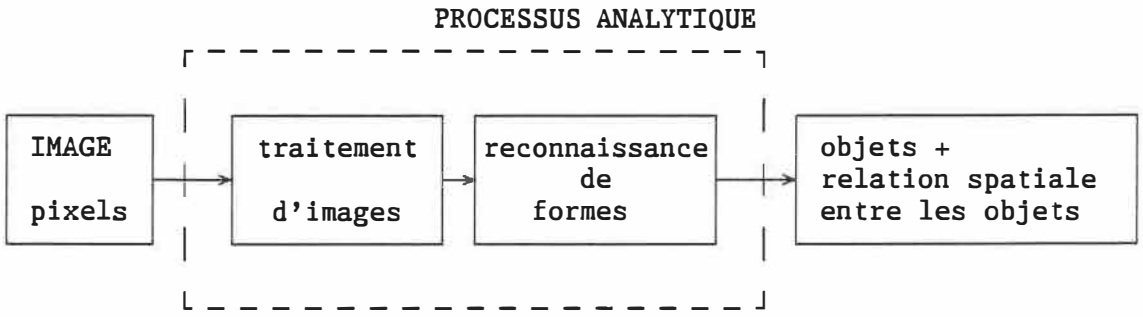


Figure 3.1. Problème global de la vision par ordinateur.

3.1) Le traitement d'images

Le traitement d'images consiste à transformer une image en d'autres images pour mettre en évidence les informations recherchées. Pour ce faire, une série de transformations mathématiques est appliquée à l'image originale. Un exemple de traitement sériel est présenté à la figure 3.2.

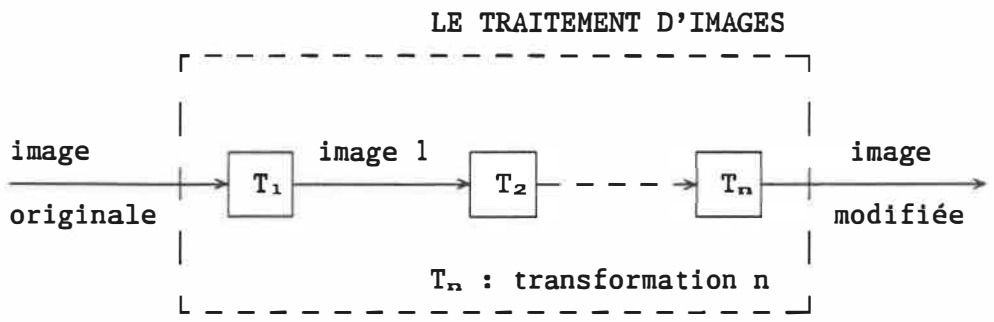


Figure 3.2. Le traitement d'images.

Le traitement d'images comprend, entre autres, les techniques de segmentation, filtrage (détection de contours, réduction du bruit de fond), rehaussement de contraste, restauration et reconstruction.

Il ne faut pas confondre traitement et analyse d'images. L'analyse d'images a pour but d'extraire certaines informations afin de diagnostiquer, d'évaluer, de caractériser ou de comparer, soit des objets à l'intérieur d'une même image ou encore différentes images entre elles. L'analyse d'images englobe le traitement proprement dit en lui ajoutant le processus de détection et d'identification ainsi que

la prise de mesures.

En ce qui concerne nos images, nous sommes interessés par les deux traitements suivants:

- transformer l'image de 512*480 pixels en une image de 256*240 pixels pour réduire le temps de traitement;
- procéder à l'égalisation d'histogrammes des images cytologiques pour les uniformiser.

3.1.1) Techniques de réduction d'images

Il est d'usage courant de réduire la dimension des images afin d'augmenter la vitesse de traitement sauf, évidemment, si la résolution est un facteur déterminant. Pour réduire une image de 512*480 pixels à une image de 256*240 pixels, trois possibilités sont envisageables, soit:

A) la sélection d'une ligne et d'une colonne sur deux;
B) le filtrage moyen;
C) le filtrage médian.

La technique A consiste à former l'image réduite en échantillonnant l'image originale, ne conservant ainsi que les lignes et les colonnes paires ou impaires. Cette méthode offre dans la plupart des cas des

résultats satisfaisants et s'avère particulièrement rapide puisqu'aucun calcul n'est requis.

Pour effectuer une réduction d'image par filtrage moyen[35] (technique B), il s'agit de:

- balayer l'image initiale à l'aide d'une fenêtre de travail de dimension m*m;
- calculer les moyennes d'intensité des groupes de m^2 pixels;
- assigner ces valeurs moyennes à la nouvelle image.

Cette méthode de réduction a la caractéristique d'un filtre passe-bas et offre l'avantage de réduire le niveau de bruit dans l'image.

La technique C par filtrage médian[36], moins connue mais très appréciée dans certains cas, s'applique comme suit:

- balayer l'image initiale à l'aide d'une fenêtre de dimension m*m (où m est une valeur impaire);
- ordonner, par ordre croissant, les m^2 valeurs d'intensité lumineuse de la fenêtre de travail;
- extraire la valeur médiane de chacun de ces vecteurs (position $(m^2+1)/2$);
- créer la nouvelle image avec ces valeurs médianes.

Cette technique, quoique beaucoup plus lente que les deux autres, offre l'avantage de réduire le bruit sans adoucir les grands changements d'intensité[37,38,39]. Contrairement au filtrage moyen, cette méthode préserve en particulier les contours des objets (régions de fort gradient).

3.1.2) Techniques d'égalisation d'histogrammes

L'égalisation d'histogrammes est un procédé de normalisation qui facilite grandement la comparaison d'images[40]. En effet, en modifiant les histogrammes des différentes images de façon à ce que ceux-ci deviennent identiques (ou très semblables), on obtient des images qui répondent davantage à des conditions générales communes.

Tout d'abord, avant de décrire cette technique, définissons l'histogramme. L'histogramme à niveaux de gris d'une image, N(n), est une fonction qui donne la fréquence d'occurrence des différentes valeurs de niveaux de gris **n** dans l'image.

La procédure générale de la technique d'égalisation d'histogrammes, telle que décrite par Rosenfeld et Kak[40], est la suivante:

histogramme de départ: $p(z) = \{p_0, p_1, \ldots p_{N-1}\}$

histogramme cible : $q(z) = \{q_0, q_1, \ldots q_{N-1}\}$

où $$\sum_{n=0}^{N-1} p_n = \sum_{n=0}^{N-1} q_n = M \qquad (1)$$

avec N : le nombre de niveaux de gris dans l'image
M : le nombre de points dans l'image

On cherche premièrement la valeur du niveau de gris k_o telle que:

$$\sum_{n=0}^{k_o-1} p_n \leq q_o < \sum_{n=0}^{k_o} p_n \qquad (2)$$

Tous les points de l'image originale ayant pour luminance z_o, z_1, ... z_{k_o-1} sont donc affectés à la nouvelle valeur z_o dans l'image transformée.

On cherche ensuite la valeur k_1 telle que:

$$\sum_{n=0}^{k_1-1} p_n \leq q_o + q_1 < \sum_{n=0}^{k_1} p_n \qquad (3)$$

De même, tous les points de l'image originale ayant pour luminance z_{k_o}, ... z_{k_1-1} sont affectés à la nouvelle valeur z_1 dans l'image transformée. Cette démarche est ensuite répétée pour trouver k_2, k_3, ... k_{N-1} selon l'équation générale exposée en (4), pour h = 0, 1, 2,... N-1.

$$\sum_{n=0}^{k_h-1} p_n \leq \sum_{n=0}^{h} q_n < \sum_{n=0}^{k_h} p_n \qquad (4)$$

Nous venons de voir la base mathématique de la technique d'égalisation d'histogrammes. Par opposition à cette technique qui n'utilise pas la subdivision des niveaux de gris de l'image originale, il existe une variante avec subdivision qui s'énonce comme suit: si la somme de gauche dans (4) est strictement inférieure à q_n, on peut prendre une fraction α des points de luminance z_{kh} (de façon à rendre ces deux termes égaux) et l'assigner à la nouvelle valeur z_h. Ces α points peuvent être choisis aléatoirement dans l'image ou bien sélectionnés en fonction d'un critère local de voisinage.

L'ajout de cette règle rend l'histogramme de l'image transformée absolument identique à l'histogramme cible contrairement à la méthode sans subdivision qui ne les rend que similaires.

Peu importe le mode d'égalisation que l'on applique, le choix décisif réside dans la sélection de l'histogramme de référence q(z), soit l'histogramme qui caractérisera chacune des images. Parmi les nombreuses classes d'histogrammes de référence, citons les trois principales:

A) l'histogramme uniforme;

B) l'histogramme hyperbolique;

C) l'histogramme caractéristique des images.

Les valeurs de l'histogramme de référence uniforme (type A) sont tout simplement M/N[41], alors que celles du type B répondent à l'équation d'une hyperbole[42]. L'histogramme de type B a été introduit pour imiter la réponse logarithmique du système visuel à l'éclairement. Cette forme de transformation est souvent utilisée pour augmenter les contrastes de l'image. En effet, les techniques d'égalisation d'histogrammes, en plus de permettre la normalisation, accentuent le contraste des images traitées[43].

Le dernier type d'histogramme de référence (type C) a pour but de modeler les histogrammes des images par rapport à un histogramme caractéristique de l'ensemble des images. L'histogramme de référence est établi en moyennant les histogrammes de la population à l'étude. Cette technique peut s'avérer longue et exige donc que l'on possède préalablement les images à traiter.

Somme toute, six possibilités s'offrent à nous à partir des trois types d'histogrammes cibles et des deux modes d'utilisation soit avec ou sans subdivision des niveaux de gris. Nous pouvons à priori éliminer les techniques avec subdivision, puisqu'étant intéressés par les textures, nous ne voulons pas modifier de façon radicale la

relation existant entre les différents niveaux de gris.

Nous terminons ainsi l'exposé concernant les techniques de traitement des images. Au chapitre 5, nous évaluons les performances de ces techniques afin de choisir celles qui sont les plus performantes en regard de notre application.

3.2) La reconnaissance de formes

La reconnaissance de formes vise à caractériser les régions segmentées à l'aide d'outils mathématiques afin de les identifier. Elle comporte en général trois étapes: l'extraction et la sélection d'attributs ainsi que la classification (voir figure 3.3).

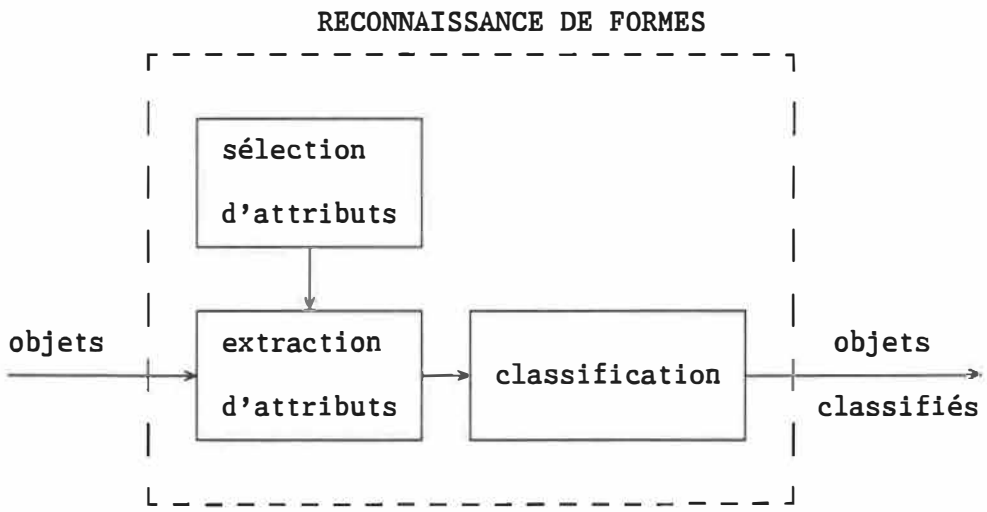


Figure 3.3. La reconnaissance de formes.

3.2.1) L'extraction d'attributs

Dans le but de classifier des objets ou des régions de l'image, il faut extraire des paramètres quantitatifs qui caractérisent les différentes classes en présence. Les paramètres permettant cette caractérisation se divisent en quatre catégories:

- géométriques (forme et dimension);
- topologiques;
- de texture du premier ordre;
- de texture du second ordre.

La géométrie d'un objet peut être quantifiée par des paramètres de forme et de dimension. Les paramètres de forme sont calculés à partir des points du contour d'un objet et sont sans dimension. Pour ne nommer que les principaux, citons: le degré d'arrondissement, le degré d'élongation ou facteur d'excentricité, la complexité du contour ou facteur de forme ainsi que le degré de convexité. Ces paramètres peuvent être obtenus grâce à plusieurs techniques, notamment à partir des descripteurs de Fourier[44,45]. La dimension se mesure essentiellement par le périmètre et la surface de l'objet considéré.

Les paramètres topologiques tiennent compte de l'organisation globale des points de l'objet et expriment la compacité de l'ensemble. Le paramètre le plus couramment utilisé est le nombre d'Euler associé

au nombre de trous de l'objet, en tant que composante connexe[35].

Nous avons exposé, à la section 2.2.2, les contraintes imposées par la nature de nos objets. En raison de leur variabilité morphologique, due principalement à l'effet de la coupe cytologique et aux objets incomplets en bordure de scène, l'utilisation des attributs géométriques doit être rejetée. De plus, les paramètres topologiques ne fournissent aucune information pertinente puisque les objets sont essentiellement de connexité unitaire.

Il s'avère donc que les attributs présentant le plus grand potentiel à la caractérisation des structures biologiques sont les paramètres de texture (premier et deuxième ordres). La partie II de ce chapitre leur est entièrement consacrée.

3.2.2) La sélection d'attributs

La sélection d'attributs consiste, d'une part, à déterminer le nombre optimal d'attributs pour effectuer la classification et, d'autre part, à sélectionner ceux qui ont les propriétés les plus discriminantes.

La difficulté principale rencontrée lors de la conception d'un classificateur supervisé consiste à déterminer le nombre optimal de paramètres qui permet d'estimer, de la façon la plus réaliste possible,

les performances du classificateur. Généralement, les performances du classificateur augmentent avec l'ajout de paramètres jusqu'à un point critique où celles-ci se détériorent par la suite[46]. Il a été démontré[47,48] que le nombre d'attributs doit être de cinq à dix fois inférieur au nombre d'objets appartenant à la plus petite classe.

Il faut aussi déterminer, parmi les attributs disponibles, ceux qui ont les propriétés les plus discriminantes. Puisque les attributs les plus discriminants, lorsque considérés individuellement, ne sont pas nécessairement les meilleurs une fois regroupés (effet de redondance)[49,50], on doit évaluer leurs performances d'une façon globale. Pour ce faire, la méthode de sélection qui consiste à évaluer successivement toutes les combinaisons d'attributs s'avère la plus fiable[51]. Quoique fastidieuse, elle est devenue accessible grâce à la puissance des ordinateurs. Plusieurs autres techniques de sélection plus rapides sont connues[52] ("sequential forward selection", "sequential backward selection", "plus l - take away r"). Ces techniques heuristiques sont cependant moins performantes que l'approche considérée ici puisqu'elles ne tiennent pas compte de tous les agencements possibles de paramètres.

3.2.3) La classification

A l'aide des attributs retenus, on peut ensuite effectuer la classification des objets. Pour ce faire, plusieurs techniques de

classification supervisée sont disponibles[52] et se divisent principalement en deux classes: les méthodes paramétriques, dont la plus connue est le classificateur bayesien, et les méthodes non paramétriques, dont la plus populaire est la méthode des **k** plus proches voisins. Mentionnons aussi l'utilisation de l'arbre de décision comme autre forme de classificateur.

La méthode des **k** plus proches voisins[53] est un classificateur reconnu pour sa simplicité. En effet, contrairement au classificateur bayesien, où l'on doit préalablement connaître la fonction de probabilité multidimensionnelle de la distribution statistique des paramètres, la méthode des **k** plus proches voisins ne requiert aucune information à priori sur la population. Puisque nous ne connaissons pas la nature de la distribution statistique de la population et qu'il s'avère complexe de l'estimer, la méthode des **k** plus proches voisins s'avère un outil intéressant dans notre cas. Ses performances sont en général comparables à celles du classificateur bayesien utilisé en supposant des distributions multi-normales[54].

Le classificateur des **k** plus proches voisins, basé sur des mesures de voisinage, fonctionne selon le principe suivant: on associe l'objet à classifier à la classe dominante de l'entourage, i.e. à celle à laquelle appartient la majorité des **k** plus proches voisins. La valeur optimale de **k**, qui varie selon l'allure de la distribution ($\sqrt{N}$ dans le cas d'une distribution normale[55], où N est le nombre d'échantillons),

peut donc être déterminée par essais et erreurs en évaluant un intervalle de valeurs autour de $\sqrt{N}$ (1 à $2\sqrt{N}$ par exemple).

Finalement, on doit évaluer les performances du classificateur en terme de probabilité d'erreur. Les quatres principales techniques d'estimation d'erreur sont[56,57,58]:

- la méthode de resubstitution;
- la méthode "holdout";
- la méthode "leave-one-out";
- les techniques "bootstrap".

Celles-ci diffèrent au niveau du biais et de la variance de l'estimé de la probabilité d'erreur.

Une méthode couramment utilisé est la méthode "leave-one-out". Malgré un temps de calcul élevé, dû à l'élaboration de N classificateurs, on l'utilise souvent car le biais généré est très faible[59]. Sa variance demeure par contre assez élevée bien qu'il soit difficile de l'évaluer.

Cette technique consiste à entraîner tour à tour le classificateur avec toutes les combinaisons de N-1 échantillons en tentant de classifier, pour chacun des cas, l'échantillon prélevé. Les performances s'expriment en termes de pourcentage de bonnes

classifications par rapport au nombre total d'échantillons.

D'une façon générale, plusieurs facteurs doivent être pris en considération lors de la conception d'un classificateur. En effet, le choix des techniques repose, entre autres, sur l'information disponible concernant la fonction de probabilité multidimensionnelle de la distribution statistique des paramètres, sur le nombre de classes, d'attributs et d'échantillons, ainsi que sur la rapidité souhaitée. Le lecteur interessé peut se référer à l'article de Jain[59] qui fait une revue exhaustive de ces différents aspects.

3.3) Synthèse

Nous avons vu que la vision par ordinateur est un domaine d'actualité et que les travaux effectués dans ce secteur proposent plusieurs approches permettant d'extraire de l'information des images. Nous avons ainsi réalisé que l'art de l'analyse d'images réside dans le choix des techniques appropriées au problème ciblé et que ce choix dépend de la nature des images et du but recherché.

PARTIE II - L'ANALYSE DE TEXTURES

Selon Haralick[60], il ne fait aucun doute que l'analyse de textures représente un élément capital en description d'images, mais il n'existe pas d'approche formelle ou de définition générale à la notion de texture. Plusieurs approches suffisamment précises sont néanmoins disponibles. En particulier, l'approche statistique permet la caractérisation des textures.

Quatre méthodes d'analyse courantes sont présentées, soit:

- mesures sur l'histogramme (1° ordre);
- mesures sur l'histogramme des différences de paires de pixels (1° ordre);
- attributs calculés à partir de la matrice des longueurs de sections (1° ordre);
- attributs extraits de la matrice de co-occurrences (2° ordre).

3.4) Mesures sur l'histogramme

Les paramètres de texture du premier ordre mesurent les propriétés des niveaux de gris contenus dans une image. La première série d'attributs du premier ordre, calculée directement à partir de l'histogramme, permet de quantifier l'allure de la distribution. Les paramètres exposés sont le mode et le module[61], les moments

centrés[62] (luminance moyenne, variance, dissymétrie et aplatissement) ainsi que l'énergie de la distribution. La dissymétrie et l'aplatissement sont des paramètres associés à la forme de l'histogramme et permettent de détecter la non-uniformité de la distribution.

Afin d'obtenir des mesures indépendantes de la grosseur de l'objet analysé, on normalise l'histogramme N(n) comme suit:

$$H(n) = \frac{N(n)}{M} \qquad (5)$$

pour n = 0, 1, 2 ... N-1

où N(n) : nombre de pixels d'intensité **n** dans l'objet,

M : nombre total de pixels,

N : nombre total de niveaux de gris.

A partir de cet histogramme, on évalue les paramètres de la façon suivante:

1) Mode

$$\text{MODE} = i \quad \text{tel que} \quad H(i) = \max \{ H(n) \} \qquad (6)$$

pour n = 0, 1, 2 ... N-1

2) Module

$$\text{MODULE} = \sum_{n=0}^{N-1} \frac{|\ H(n) - R(n)\ |}{(\ H(n)\ [\ 1-H(n)\ ] + R(n)\ [\ 1-R(n)\ ]\ )^{1/2}} \qquad (7)$$

où R(n) : histogramme normalisé de référence, soit un histogramme uniforme d'amplitude 1/N.

3) Luminance moyenne

$$\mu_1 = \sum_{n=0}^{N-1} n\ H(n) \qquad (8)$$

4) Variance

$$\mu_2 = \sum_{n=0}^{N-1} (n-\mu_1)^2\ H(n) \qquad (9)$$

et l'écart type $\sigma_n = \sqrt{\mu_2}$

5) Dissymétrie (skewness)

$$\mu_3 = \frac{1}{\sigma_n^3} \sum_{n=0}^{N-1} (n-\mu_1)^2\ H(n) \qquad (10)$$

6) Aplatissement (kurtosis)

$$\mu_4 = \frac{1}{4} \sum_{n=0}^{N-1} (n-\mu_1)^4\ H(n) \qquad (11)$$

7) Energie

$$E = \sum_{n=0}^{N-1} [\ H(n)\ ]^2 \qquad (12)$$

3.5) Mesures sur l'histogramme des différences de paires de pixels

Au lieu de caractériser un objet à partir de l'histogramme des niveaux de gris, lequel se veut une mesure d'ensemble où l'on perd totalement la notion de l'agencement spatial, on peut mesurer certaines propriétés dans un voisinage local. A partir d'un histogramme des différences entre paires de pixels séparés d'une distance spécifique selon une orientation donnée, Weszka et al.[63] proposent certaines mesures telles que la moyenne, le contraste, le second moment angulaire et l'entropie.

Ce type d'histogramme est établi en considérant tous les pixels de l'objet et en effectuant la différence entre chacun de ceux-ci et le voisin situé à une distance **d** selon une orientation donnée **θ**. Ces valeurs d'intensité forment ainsi l'histogramme $N(n,d,\theta)$ que l'on normalise par la suite.

$$H(n,d,\theta) = \frac{N(n,d,\theta)}{M} \qquad (13)$$

pour $n = 0, 1, 2 \ldots N-1$

où $N(n,d,\theta)$: nombre de différences d'intensité n de paires de pixels séparées d'une distance d selon une direction θ,

M : nombre total de pixels dans l'objet,

N : nombre total de niveaux de gris.

A partir de cet histogramme, on extrait ensuite les attributs suivants:

1) Moyenne

$$DPP1 = \sum_{n=0}^{N-1} n \; H(n,d,\theta) \qquad (14)$$

2) Contraste

$$DPP2 = \sum_{n=0}^{N-1} n^2 \; H(n,d,\theta) \qquad (15)$$

3) Second moment angulaire

$$DPP3 = \sum_{n=0}^{N-1} H(n,d,\theta)^2 \qquad (16)$$

4) Entropie

$$DPP4 = - \sum_{n=0}^{N-1} H(n,d,\theta) \log H(n,d,\theta) \qquad (17)$$

Les variables de cette méthode sont la direction d'analyse (0°, 45°, 90° et 145°) et la distance entre les paires de pixels. Dans le cas de structures anisotropes, les mesures obtenues varient selon la direction d'analyse et fournissent donc un indice de l'orientation. Dans notre cas, nous pouvons supposer que les structures sont soumises au principe d'isotropie rotationnelle. En effet, il suffit de regarder les textures des organites concernés pour constater qu'elles n'ont pas d'arrangement spatial directionnel préférentiel. Il est donc d'usage courant, dans ces cas-là, d'établir l'histogramme à partir des différences entre les pixels et la moyenne de leurs voisins localisés à une distance **d**.

En principe, pour caractériser entièrement une texture, il faudrait évaluer toutes les valeurs possibles de distance[64]. En fait, dans le cas de textures de nature stochastique, la corrélation entre les luminances diminue en fonction de la distance, véhiculant par conséquent moins d'information sur les textures. Des études comparatives[63,65,66,67] confirmant cet énoncé préconisent une distance d'analyse unitaire.

3.6) Mesures calculées à partir de la matrice des longueurs de sections

Une autre technique, très populaire, est basée sur l'extraction de paramètres à partir des matrices des longueurs des sections (gray level run lenght). Ces paramètres du premier ordre offrent l'avantage de la

simplicité mais ne mesurent essentiellement que des propriétés locales.

Cette technique, introduite par Galloway[68], fonctionne selon le principe suivant: on extrait des paramètres d'une matrice qui dénombre, selon une direction donnée, les sections de niveau de gris **n** et de longueur **l** présentes dans l'objet. Une section est définie comme une suite de points colinéaires ayant le même niveau de gris; la longueur de la section fait référence au nombre de points qui la constituent.

Les éléments de la matrice P(nl,θ) (voir figure 3.4) représentent donc, pour une orientation donnée **θ**, le nombre d'apparitions respectives des différents types de sections dans l'objet, le type se caractérisant par les valeurs de **n** et **l**.

LONGUEUR DES SECTIONS

1 2 3 L

NIVEAU DE GRIS

0
1
.
.
.
N-1

$$\begin{bmatrix} & & & & \\ & & & & \\ & & P(nl,\theta) & & \\ & & & & \\ & & & & \end{bmatrix}$$

Figure 3.4. Matrice P(nl,θ)

Cette matrice est ensuite normalisée pour former p(nl,θ).

$$p(nl,\theta) = \frac{P(nl,\theta)}{M} \qquad (18)$$

pour n = 0, 1, 2 ... N-1
l = 1, 2, 3 ... L

où P(nl,θ) : matrice des longueurs de sections,

N : nombre de niveaux de gris ou de classes de niveaux de gris,

L : longueur maximale que peut avoir une section dans l'objet,

M : nombre total de pixels dans l'objet.

A partir de cette matrice, on calcule ensuite les cinq paramètres suivants:

1) Richesse en sections courtes (short-runs emphasis)

$$RSC = \sum_{n=0}^{N-1} \sum_{l=1}^{L} \frac{1}{l^2} \, p(nl,\theta) \qquad (19)$$

2) Richesse en sections longues (long-runs emphasis)

$$RSL = \sum_{n=0}^{N-1} \sum_{l=1}^{L} l^2 \, p(nl,\theta) \qquad (20)$$

3) Non-uniformité des niveaux de gris (gray level non-uniformity)

$$NUN = \sum_{n=0}^{N-1} \left[\sum_{l=1}^{L} p(nl,\theta) \right]^2 \qquad (21)$$

4) Non-uniformité des longueurs de sections (run lenght non-uniformity)

$$NUL = \sum_{l=1}^{L} \left[\sum_{n=0}^{N-1} p(nl,\theta) \right]^2 \qquad (22)$$

5) Taux de sections (run percentage)

$$TS = \sum_{n=0}^{N-1} \sum_{l=1}^{L} p(nl,\theta) \qquad (23)$$

Les variables à considérer pour effectuer cette analyse sont: la direction d'analyse (0°, 45°, 90° et 135°) et le nombre de niveaux de gris ou de classes de niveaux de gris.

D'une part, lorsque le principe d'isotropie rotationnelle peut être supposé, on forme la matrice $P(nl,\theta)$ en considérant tour à tour les quatre directions. Cette approche s'avère avantageuse puisque nous n'obtenons ainsi qu'un seul paramètre caractéristique au lieu de quatre. Evidemment, si nous voulions analyser des structures linéaires, nous nous servirions des quatre attributs afin de déterminer l'orientation préférentielle.

D'autre part, il est démontré[63] que le fait de regrouper les niveaux de gris en classes rend la méthode moins sensible au bruit de fond et réduit le temps de calcul. Ainsi, au lieu de traiter 256 ou 128 niveaux de gris, on traite 64, 32, 16 ou 8 classes. Il s'agit ici de déterminer le nombre de classes qui optimise les performances des attributs.

Il s'avère intéressant de chercher à saisir la signification des mesures effectuées. Pour ce faire, référons-nous à la figure 3.5 qui sert de point de référence à la discussion qui suit.

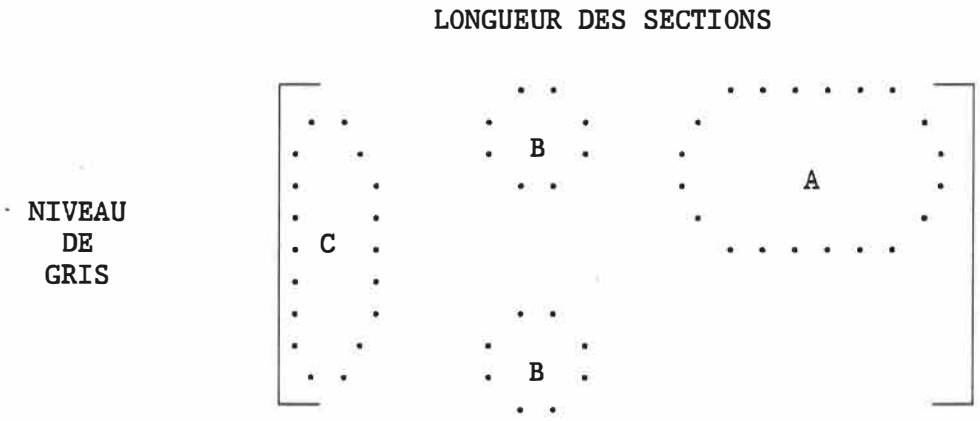


Figure 3.5. Distribution de trois textures dans p(nl,θ).
A- texture homogène de faible intensité,
B- texture analogue à celle d'un damier,
C- texture aléatoire.

Les mesures extraites des matrices visent à quantifier l'allure de la distribution, i.e. l'absence où la présence de nuages tout en les localisant. Considérons, par exemple, un objet de texture relativement

homogène et de faible intensité. La matrice correspondante est donc constituée d'un nuage de forte densité situé en A. En appliquant les cinq mesures à cette distribution, celles-ci présenteraient les tendances suivantes* : RSC ↓↓ , RSL ↑↑ , NUN ↓ , NUL ↓ , TS ↓ . De même, les mesures d'une texture semblable à celle d'un damier (B), de mailles de grosseur moyenne auraient le comportement suivant: RSC ↑ , RSL ↓ , NUN ↑ , NUL ↓↓ , TS ↓ .

La signification des quatre premières mesures étant explicite, concentrons notre attention sur la dernière soit, le taux de sections. Celle-ci a une valeur maximale unitaire lorsque le nombre de sections détectées est égale au nombre de pixels dans l'objet (texture où aucun voisin ne possède des niveaux de gris similaires); cette valeur diminue en fonction de l'homogénéité. A la limite, la plus faible valeur que ce paramètre peut prendre survient lorsque l'objet est constitué d'un seul niveau de gris. Ainsi, une texture de nature aléatoire ou extrêmement bruyante aurait un nuage situé en C.

* Signification des symboles utilisés:

↑↑: valeur très élevée,

↑ : valeur élevée,

— : valeur moyenne,

↓ : valeur faible,

↓↓: valeur très faible.

Cette dernière démonstration est importante car elle permet de comprendre la raison pour laquelle la méthode offre de meilleurs résultats en regroupant les niveaux de gris. En effet, en augmentant le nombre de niveaux de gris (128, 256), la méthode, sensible au bruit de fond[66], générera des matrices dont la distribution aura tendance à se déplacer vers la région C et ce, peu importe la texture des objets considérés. Les performances de la méthode se dégradent par le fait même puisque les attributs calculés perdent alors leurs pouvoirs discriminants.

3.7) Mesures calculées à partir de la matrice de co-occurrences

Finalement, on peut caractériser un objet ou une région de l'image à partir d'attributs de texture du deuxième ordre[65]. Il a été démontré que l'interprétation des propriétés du deuxième ordre joue un rôle important dans la perception humaine[69,70]. Ces paramètres ont pour but de mesurer l'organisation spatiale des niveaux de gris. La technique considérée, introduite par Haralick et al.[71] ainsi que Rosenfeld et Troy[72], est basée sur l'établissement de la matrice de co-occurrences.

La matrice $P(i/j, d, \theta)$ (voir figure 3.6) est construite en considérant, selon une orientation donnée θ, toutes les paires de pixels séparées d'une distance **d**. Pour chacune de ces paires, on compile, à l'intérieur de la matrice, la co-occurrence des luminances **i**

et j formant la paire de pixels.

$$
\begin{array}{cc}
 & \text{LUMINANCE } i \\
 & \begin{array}{ccccccc} 0 & 1 & . & . & . & . & N-1 \end{array} \\
\text{LUMINANCE } j \begin{array}{c} 0 \\ 1 \\ . \\ . \\ . \\ . \\ . \\ N-1 \end{array} & \left[\begin{array}{c} \\ \\ \\ P(i/j,\ d,\ \theta) \\ \\ \\ \\ \end{array} \right]
\end{array}
$$

Figure 3.6. Matrice P(i/j, d, θ).

Cette matrice est ensuite normalisée et chaque élément de p(i/j, d, θ) a une valeur de probabilité conditionnelle comprise dans l'intervalle [0,1]. Afin de simplifier la notation, nous exprimons dorénavant la matrice normalisée p(i/j, d, θ) de la manière suivante:

$$p(i/j) = \frac{P(i/j)}{M} \qquad (24)$$

pour $i = 0, 1, 2 \ldots N-1$
$j = 1, 2, 3 \ldots N-1$

où P(i/j) : matrice des co-occurrences,

N : nombre de niveaux de gris ou de classes de niveaux de gris,

M : nombre total de pixels dans l'objet.

A partir de cette matrice normalisée, on effectue certains calculs préliminaires.

Calculs préliminaires

$$p_x(i) = \sum_{j=0}^{N-1} p(i/j) \tag{25}$$

$$p_y(j) = \sum_{i=0}^{N-1} p(i/j) \tag{26}$$

$$p_{x-y}(k) = \sum_{j=0}^{N-1} \sum_{i=0}^{N-1} p(i/j) \tag{27}$$

$$|i-j| = k$$

pour $k = 0, 1, \ldots. N-1$

$$p_{x+y}(k) = \sum_{j=0}^{N-1} \sum_{i=0}^{N-1} p(i/j) \tag{28}$$

$$i+j = k$$

pour $k = 0, 1, \ldots. 2N-2$

On peut constater que $p_x(i)$ représente la somme de chacune des colonnes de la matrice et $p_y(j)$ celle des lignes. De plus, on peut voir, à la figure 3.7a, les éléments de la première série de diagonales de $p_{x-y}(k)$ et, à la figure 3.7b, les éléments de la deuxième série de diagonales $p_{x+y}(k)$. Pour chacune des diagonales, $p_{x\pm y}(k)$ est formé par la somme des éléments qui la constituent.

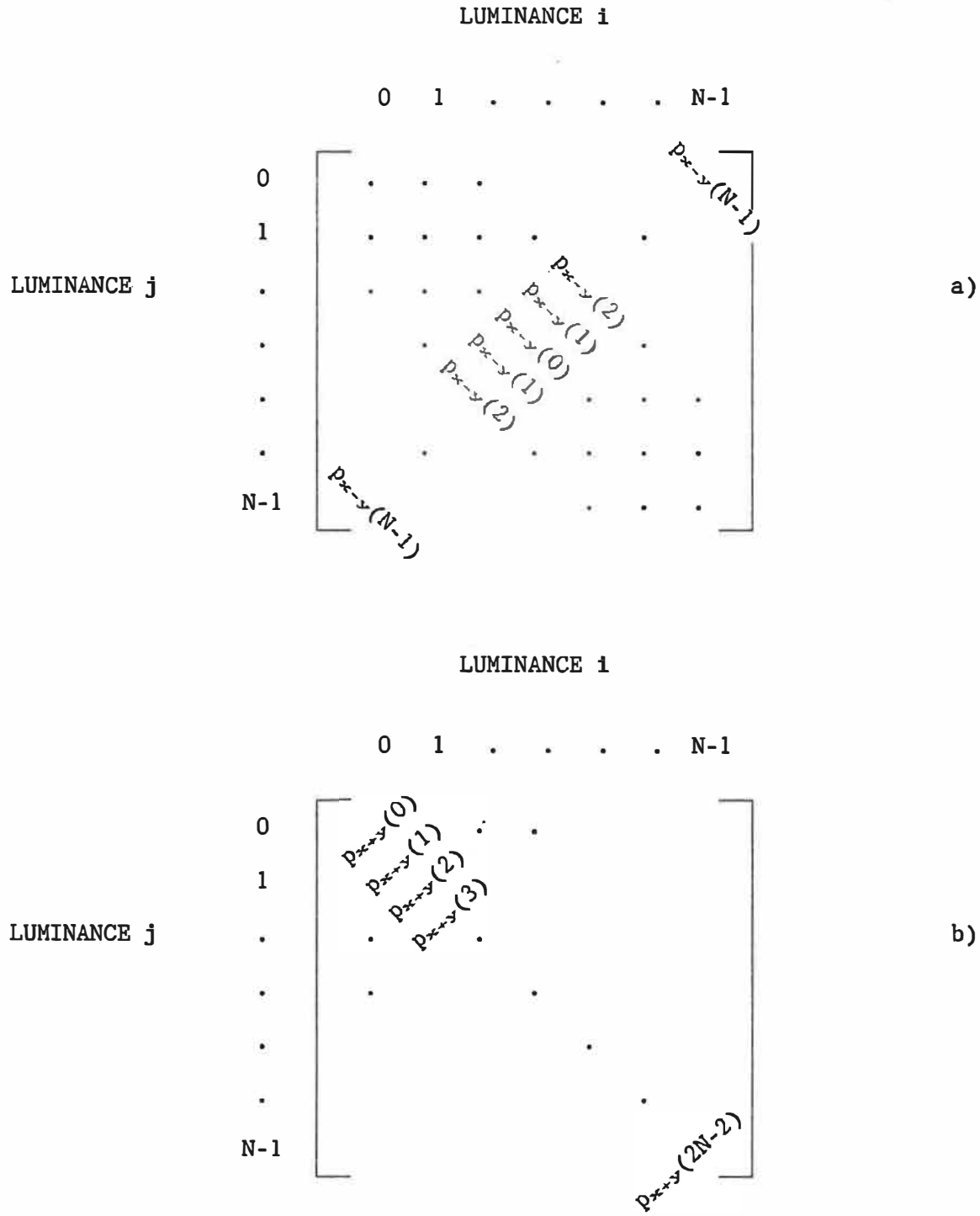


Figure 3.7. a) Eléments de p_{x-y} ,
b) Eléments de p_{x+y} .

Les valeurs de $p_{x-y}(k)$ représentent le nombre de paires de pixels de l'objet dont la différence des intensités lumineuses est égale à **k**. La valeur $p_{x-y}(0)$ correspond donc au nombre paires de pixels de même luminance. Ainsi, le vecteur $p_{x+y}(k)$ d'une texture homogène aura une forte distribution pour de faibles valeurs de **k**.

De même, les valeurs de $p_{x+y}(k)$ représentent le nombre de paires de pixels dont la somme des intensités lumineuses est égale à **k**.

A partir des calculs préliminaires de $p_x(i)$, $p_y(j)$, $p_{x-y}(k)$ et $p_{x+y}(k)$, on évalue les quatorze paramètres suivants, soit MC1 à MC14.

1) Second moment angulaire ou énergie de la distribution

$$MC1 = \sum_{j=0}^{N-1} \sum_{i=0}^{N-1} (p(i/j))^2 \qquad (29)$$

2) Contraste

$$MC2 = \sum_{k=0}^{N-1} k^2 \, p_{x-y}(k) \qquad (30)$$

3) Corrélation

$$MC3 = \frac{\sum_{j=0}^{N-1} \sum_{i=0}^{N-1} (ij) \, p(i/j) - \mu_x \, \mu_y}{\sigma_x \, \sigma_y} \qquad (31)$$

où $$\mu_x = \sum_{i=0}^{N-1} i \; p_x(i)$$

$$\sigma_x = \sqrt{\sum_{i=0}^{N-1} (i-\mu_x)^2 \; p_x(i)}$$

$$\mu_y = \sum_{j=0}^{N-1} j \; p_y(j)$$

$$\sigma_y = \sqrt{\sum_{j=0}^{N-1} (j-\mu_y)^2 \; p_y(j)}$$

4) Moment différentiel ou inertie

$$MC4 = \sum_{j=0}^{N-1} \sum_{i=0}^{N-1} (i-j)^2 \; p(i/j) \qquad (32)$$

5) Moment différentiel inverse

$$MC5 = \sum_{j=0}^{N-1} \sum_{i=0}^{N-1} p(i/j) \; / \; (1 + (i-j)^2) \qquad (33)$$

6) Entropie de la distribution

$$MC6 = - \sum_{j=0}^{N-1} \sum_{i=0}^{N-1} p(i/j) \; \log \; p(i/j) \qquad (34)$$

7) Moyenne de la distribution de la première série de diagonales

$$MC7 = \sum_{k=0}^{N-1} k \, p_{x-y}(k) \tag{35}$$

8) Variance de la distribution de la première série de diagonales

$$MC8 = \sum_{k=0}^{N-1} (k-MC7)^2 \, p_{x-y}(k) \tag{36}$$

9) Entropie de la distribution de la première série de diagonales

$$MC9 = - \sum_{k=0}^{N-1} p_{x-y}(k) \log p_{x-y}(k) \tag{37}$$

10) Moyenne de la distribution de la deuxième série de diagonales

$$MC10 = \sum_{k=0}^{2N-2} k \, p_{x+y}(k) \tag{38}$$

11) Variance de la distribution de la deuxième série de diagonales

$$MC11 = \sum_{k=0}^{2N-2} (k-MC10)^2 \, p_{x+y}(k) \tag{39}$$

12) Entropie de la distribution de la deuxième série de diagonales

$$MC12 = - \sum_{k=0}^{2N-2} p_{x+y}(k) \log p_{x+y}(k) \tag{40}$$

13) Moment diagonal

$$MC13 = \sum_{j=0}^{N-1} \sum_{i=0}^{N-1} \sqrt{0.5\ |i-j|\ p(i/j)} \qquad (41)$$

14) Second moment diagonal

$$MC14 = \sum_{j=0}^{N-1} \sum_{i=0}^{N-1} 0.5\ |i-j|\ p(i/j) \qquad (42)$$

Une fois de plus, les variables à considérer dans cette méthode sont la distance et la direction d'analyse ainsi que le nombre de classes de niveaux de gris traitées. Notons, dans ce cas-ci, que l'usage de classes telles que 128 et 256 ne détériorent pas les performances de la méthode contrairement à leur effet sur celle décrite précédemment. En effet, l'augmentation du nombre de niveaux ne modifie pas la localisation des nuages. On cherche toutefois à réduire ce nombre afin de favoriser une rapidité de calcul.

Haralick et al.[71] mentionne que même si les attributs extraits des matrices de co-occurrences contiennent de l'information relative aux textures, il s'avère difficile d'identifier les caractéristiques texturales spécifiques représentées par chacune de ces mesures. Néanmoins, à l'aide de la figure 3.8 qui reprend les trois exemples de textures utilisées à la section précédente, certaines tendances peuvent être déduites.

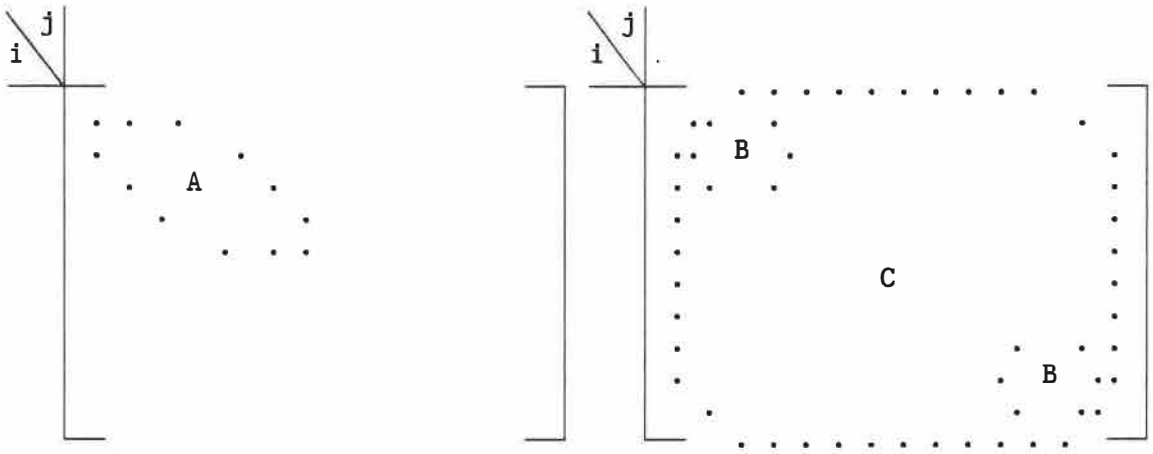


Figure 3.8. Distribution de trois textures dans p(i/j,d,θ).
A- texture homogène de faible intensité,
B- texture analogue à celle d'un damier,
C- texture aléatoire.

Notons, par exemple, que les paramètres de la première série de diagonales, soit MC7 à MC9 (cf. figure 3.7a) ainsi que MC2, sont particulièrement représentatifs de la texture A, puisque ce sont des paramètres d'homogénéité. Les attributs de la deuxième série de diagonales, soit MC10 à MC12 (cf. figure 3.7b), représentent bien la texture B. Finalement, dans le cas de la texture C, MC1 et MC2 ainsi que MC8 et MC11 prendraient des valeurs élevées, étant donné la grande variance des valeurs de niveaux de gris.

3.8) Synthèse

L'analyse de textures constitue un chapitre important dans l'histoire de la vision par ordinateur puisqu'elle permet de caractériser, classifier et segmenter des objets ou régions dans une

scène. On l'utilise également pour déterminer l'orientation des surfaces (vision en profondeur).

Nous venons de présenter les quatre méthodes d'analyse de textures les plus couramment utilisées. Pour une description des autres techniques disponibles, le lecteur peut consulter le chapitre 9 du livre de Levine[73] "Vision in man and machine" ainsi que la revue de Gool et al.[74].

CHAPITRE 4

MATERIEL ET METHODE

4.1) Système informatique et matériel biologique

Ce projet a été réalisé au laboratoire de génie biomédical de l'Institut de recherches cliniques de Montréal, en collaboration avec le laboratoire de pathobiologie qui a fourni le matériel biologique à traiter.

4.1.1) Description du système utilisé

Le système informatique utilisé pour ce projet est principalement composé d'un ordinateur de type PC-AT Alpha 386 (25 MHz) avec 2 Méga-octets de mémoire RAM et un disque rigide de 80 Méga-octets. L'ordinateur est muni d'un coprocesseur mathématique 80387, d'un processeur vidéo analogique-numérique (Matrox PIP-1024) et d'une souris (Genius Mouse) pour faciliter l'interaction avec l'usager.

L'acquisition des images est effectuée à l'aide d'une caméra vidéo CCTV (Hitachi KP-130U) et d'une table d'illumination au quartz halogène

dont l'intensité lumineuse peut être contrôlée au moyen d'un rhéostat. La caméra est montée sur une colonne motorisée (Marron Carrel). L'image numérisée (256 niveaux de gris), d'une dimension de 512*480 pixels, est reproduite sur un moniteur vidéo couleur RGB (Mitsubishi HF-1400).

Les ressources matérielles du système sont gérées par un système d'exploitation DOS et les programmes développés sont écrits en langage C. Le logiciel LATIN (logiciel d'analyse et de traitement des images numériques), développé à l'Institut de génie biomédical, est utilisé comme outil de développement.

4.1.2) Matériel biologique

Pour valider la méthode proposée, soixante radioautogrammes ont été sélectionnés. Les images, provenant de négatifs de 7 cm * 10 cm obtenus directement à partir du microscope électronique, ont été choisies pour répondre aux critères suivants:

- issues de la même expérience;
- acquises avec le même facteur de grossissement.

Le choix d'échantillons issus d'une même expérience minimise les variations de contraste inhérentes au procédé de coloration et de développement photographique (cf. annexe A). De plus, pour effectuer une analyse texturale, on doit se restreindre à ne choisir que les

échantillons obtenus au même facteur de grossissement, ceci afin de traiter des images présentant les mêmes propriétés spatiales.

4.2) Acquisition des images

Les erreurs dont peuvent être entachées les mesures peuvent provenir de plusieurs sources. Au chapitre deux, nous avons traité des erreurs introduites lors de l'étape de préparation des échantillons, mais nous n'avons pas encore tenu compte des erreurs associées à l'analyseur d'images.

4.2.1) Biais introduit par le système de mesures

Le traitement électronique de l'image peut introduire deux sortes d'erreurs: l'une relative à la résolution spatiale et l'autre au contraste de l'image[36].

Dans notre cas, la résolution spatiale, déterminée par la caméra et par la bande passante des systèmes d'amplification, ne constitue pas un facteur limitatif puisque nous n'avons pas de structures fines ou de petits objets à analyser.

Par contre, le biais relatif au contraste de l'image doit être considéré car nous voulons extraire des paramètres densitométriques et texturaux.

La réponse de la caméra CCTV ("charge-coupled TV") à l'éclairement n'est généralement pas la même en tous points en raison de la non-uniformité des éléments photosensibles. On note souvent une perte d'efficacité en périphérie de la matrice réceptrice. De plus, la non-linéarité du système d'amplification électronique peut altérer la valeur des niveaux de gris. Nous remédions à ce problème en effectuant, à l'étape de pré-traitement des images, une correction ponctuelle des luminances. Cette technique courante fait l'objet de la section 4.3.

Un problème plus sérieux est associé à la plage dynamique de la caméra utilisée. En effet, il s'avère impossible, au moyen d'une seule acquisition, d'obtenir à la fois une bonne visualisation de la coupe cellulaire et une bonne résolution des grains d'argent.

Décrivons qualitativement l'aspect du négatif afin de bien comprendre le problème. Le négatif est formé de structures biologiques, représentées par des teintes de gris, et de grains d'argent qui apparaissent comme des régions transparentes. En réglant l'intensité lumineuse pour bien voir les structures, la caméra est éblouie ("blooming") et les grains ont souvent tendance à former des taches diffuses. De plus, il est difficile de les différencier des régions claires de l'image cytologique. D'autre part, en réduisant le niveau d'éclairement pour obtenir une bonne résolution du contour des grains, on ne voit presque plus les structures biologiques. En effet, l'image

devient très sombre à l'exception des grains.

4.2.2) Réglage de l'intensité lumineuse

Pour chacune des images traitées, il faut donc procéder à l'acquisition de deux images de travail: la première mettant en évidence les grains d'argent et l'autre, les structures biologiques.

Afin d'obtenir des images les plus similaires possibles à l'intérieur de chacun des deux groupes de travail, il est essentiel de déterminer les critères inhérents à ces acquisitions quant au réglage de l'intensité lumineuse.

A) Les images des grains d'argent

Pour bien voir les grains, on doit acquérir les images à faible intensité lumineuse. Une fois déterminée, celle-ci peut être maintenue constante puisque les caractéristiques des grains ne varient pas d'une image à l'autre. En effet, ces régions de l'image sont identiques, en termes de transparence, sur les différents clichés et le reste de l'image n'exerce aucune influence perceptible.

Cette démarche met en évidence les grains d'argent permettant ainsi d'utiliser un simple seuillage de l'histogramme[35] pour les segmenter.

L'usage d'un faible éclairement permet aussi de segmenter sans se

soucier du problème relatif à la présence d'artefacts. En effet, si une seule image de travail était utilisée, les artefacts et les grains apparaîtraient comme des régions claires et seraient par conséquent difficilement différentiables. Grâce à cette méthode, ils ne peuvent pas être confondus car les artefacts ne sont pas des régions transparentes du négatif. Dans le cadre de l'élaboration d'une méthode automatique ou semi-automatique, un problème à résoudre serait la séparation des grains d'argent agglomérés[36,75,76].

B) Les images cytologiques

Dans le cas des images cytologiques, un éclairement pré-défini ne peut être utilisé pour tous les négatifs et ce, pour deux raisons:

- la variabilité du contraste des négatifs;
- le nombre inconstant de grains d'argent présents sur les clichés.

Le taux d'éblouissement de la caméra est directement lié au nombre de grains d'argent en présence. Ainsi, même si des images de teinte semblable étaient disponibles, il ne serait pas possible d'utiliser une intensité lumineuse constante, puisque la réponse de la caméra à l'éclairement dépend du nombre de grains.

Sur quel(s) critère(s) doit-on se fier pour obtenir des images à niveaux de gris comparables? L'évaluation visuelle de la qualité de

l'image étant trop subjective, l'illumination a été ajustée de façon à obtenir une moyenne des niveaux de gris similaire pour chacune des images. En supposant que les images sont de même nature (stochastique), l'obtention d'une moyenne globale semblable a un effet normalisateur.

4.3) Pré-traitement des images : correction ponctuelle des luminances

Mis à part le réglage manuel des intensités lumineuses, le biais généré par la caméra et par le système d'amplification peut être corrigé par logiciel. La technique utilisée pour corriger les variations ponctuelles des luminances, i.e. celles associées à chacun des pixels de l'image, est maintenant décrite.

Un système idéal de production d'images devrait transformer de façon monotone les niveaux d'éclairement d'une scène en valeur de luminance f(x,y) et ce, indépendamment de la position (x,y) du point dans l'image[40]. En réalité, la transformation varie en fonction de la position et produit des valeurs de luminance pouvant être décrites par:

$$g(x,y) = e(x,y)\, f(x,y) \tag{43}$$

où e(x,y) représente la modulation spatiale de la transformation éclairement-luminance.

Pour compenser ce phénomène[40], on peut estimer l'ensemble des valeurs $e(x,y)$ en soumettant à l'entrée du système une scène d'éclairement uniforme **c**. Si la réponse à cette scène est $g_c(x,y)$, on a:

$$e_c(x,y) = (1/c)\ g_c(x,y) \tag{44}$$

La compensation pour une scène quelconque consiste donc en:

$$f(x,y) = g(x,y)\ /\ e_c(x,y) \tag{45}$$

En soumettant à la caméra une scène d'éclairement uniforme, la valeur de **c** est établie comme étant la moyenne des intensités lumineuses de $g_c(x,y)$. Par exemple, en ne plaçant rien sous la caméra et en ajustant l'intensité lumineuse de façon à obtenir une valeur de **c** égale à 128 (valeur centrale de la plage d'intensité), une fonction correctrice $e_c(x,y)$ satisfaisante peut être calculée à l'aide de l'équation 44.

4.4) Description des étapes de la méthode

La description de chacune des étapes de notre projet fait l'objet des sections suivantes. Rappelons brièvement celles-ci:

A) segmentation manuelle des organites et étiquetage;

B) réduction d'images;

C) égalisation d'histogrammes;

D) extraction des attributs texturaux;

E) classification.

Dans certains cas, plusieurs possibilités s'offrent à nous pour résoudre une étape spécifique du projet. L'analyse des différentes possibilités est présentée de façon stucturée sous forme de quatre études distinctes. Celles-ci, qui constituent la méthodologie proprement dite, font l'objet de la section 4.5.

4.4.1) Segmentation manuelle des organites

Pour extraire manuellement les organites à l'aide de la souris, une technique d'interpolation est choisie, puisqu'il serait long et fastidieux de tracer le contour complet de ceux-ci. Ainsi, l'usager positionne des repères (points de contrôle) sur le pourtour des objets et l'ordinateur calcule et trace le contour interpolé. La méthode la plus couramment utilisée en CAO (conception assistée par ordinateur) est celle des splines cubiques[77,78].

La courbe d'interpolation générée par cette méthode s'adapte bien à la forme relativement circulaire de nos objets puisqu'elle répond à une équation du troisième ordre passant par les marqueurs. De plus, cette

technique ne crée pas de rebondissement et permet un très bon contrôle local. En effet, pour mouler une partie du contour qui présente un changement d'inflexion, il suffit de positionner un plus grand nombre de points de contrôle.

Le remplissage des contours est ensuite effectué dans le but de créer un masque de travail. Les différents constituants de ce masque binaire sont ensuite étiquetés afin de pouvoir repérer et traiter individuellement chacune des structures de l'image.

4.4.2) Réduction d'images et égalisation d'histogrammes

Afin de réduire la dimension de l'image initiale (512*480 pixels à 256*240 pixels), trois techniques ont été présentées à la section 3.1.1, soit:

- la sélection d'une ligne et d'une colonne sur deux;
- le filtrage moyen;
- le filtrage médian.

Ne pouvant en choisir une à priori, celles-ci sont comparées lors d'une étude. Notons que le filtrage moyen est effectué en considérant une fenêtre d'une dimension de 2*2 pixels et qu'une fenêtre de 3*3 pixels est utilisée dans le cas du filtrage médian.

A la section 3.1.2, nous avons exposé la technique d'égalisation d'histogrammes. Son effet est étudié en comparant les résultats obtenus à ceux trouvés sans l'application de la technique. L'histogramme de référence choisi est l'histogramme uniforme, tel qu'utilisé par Chen et al.[79], Galloway[68], Haralick et al[71], Pressman[65] ainsi que Weska et al.[63], et traité par Conners et al.[80]

4.4.3) Extraction des attributs texturaux

Un résumé des méthodes d'analyse de textures du premier et du deuxième ordres se trouve au tableau 4.1. Rappelons que les variables à considérer, dépendant de la méthode utilisée, sont:

- **N** : le nombre de classes de niveaux de gris;
- **d** : la distance entre les paires de pixels;
- **θ** : l'angle d'analyse.

En posant l'hypothèse que nos images répondent au principe d'isotropie rotationnelle, nous avons vu qu'au lieu d'analyser les images selon quatre directions, nous pouvons, grâce au calcul de la moyenne, n'utiliser qu'un seul attribut. De plus, la distance d'analyse unitaire est utilisée. Ces deux hypothèses de travail seront néanmoins vérifiées ultérieurement.

METHODE	N	d	θ
Mesures sur l'histogramme	256	-	-
Mesures sur l'histogramme des paires de pixels	256	1	Σ
Longueur de sections	8-16-32-64	-	Σ
Matrices de co-occurrences	8-16-32-64	1	Σ

Tableau 4.1. Modes d'utilisation des techniques d'analyse de textures du premier et du deuxième ordres.
(- : non applicable)
(Σ : moyennage selon les quatre directions)

Finalement, il est important de déterminer le nombre optimal de classes de niveaux de gris qui permet à la fois de minimiser le temps de calcul tout en offrant un pouvoir discriminant suffisant. Les classes étudiées sont 8, 16, 32 et 64.

Jusqu'à présent, trois facteurs influençant les performances des méthodes d'analyse de textures ont été exposés. Le choix pertinent d'une technique de réduction et d'égalisation ainsi que du nombre de niveaux de gris est primordial puisque ces facteurs modifient les caractéristiques visuelles des objets à caractériser. La méthodologie proposée consiste à étudier l'influence de ceux-ci en observant leur effet sur les résultats obtenus lors de la classification des échantillons. Ainsi, un taux de classification plus élevé (meilleur rendement de la méthode à l'étude) permettra de tirer des conclusions

significatives sur le choix de la démarche finale.

4.4.4) Classification

Le double objectif de la sélection d'attributs est de trouver le nombre optimal d'attributs requis pour effectuer la classification et de déterminer ceux qui sont les plus discriminants.

Nous avons vu que le nombre d'attributs doit être inférieur à cinq fois le nombre d'échantillons de la classe la moins populeuse. Lors de l'étude 1, une population constituée de trente échantillons par classe est utilisée. Ainsi, pour chacune des méthodes, les performances des différentes combinaisons de 1, 2, 3, 4, 5 et 6 attributs, parmi l'ensemble d'attributs disponibles, seront évaluées. En effet, la meilleure façon de sélectionner les plus performants est d'analyser toutes les combinaisons possibles. Le tableau 4.2 donne le nombre de combinaisons à évaluer en fonction de la méthode utilisée et du nombre d'attributs considérés.

Décrivons maintenant le classificateur qui constitue l'outil décisionnel de notre projet. La méthode choisie est celle des **k** plus proches voisins car on ne connait pas la distribution multidimensionnelle de nos paramètres. Ce classificateur, développé au laboratoire de génie biomédical de l'Institut de recherches cliniques, évalue pour les différentes valeurs de **k** comprises entre 1 et $2\sqrt{N}$ celle(s) qui

METHODE (nombre total d'attributs)	NOMBRE D'ATTRIBUTS CONSIDERES					
	1	2	3	4	5	6
Mesures sur l'histogramme (7)	7	21	35	35	21	7
Mesures sur l'histogramme des paires de pixels (4)	4	6	4	1	-	-
Longueur de sections (5)	5	10	10	5	1	-
Matrices de co-occurrence (14)	14	91	364	1001	2002	3003

Tableau 4.2. Nombre de combinaisons à évaluer selon la méthode utilisée et le nombre d'attributs considérés.

permet(tent) d'obtenir le meilleur pourcentage de classification. La mesure de distance utilisée est la distance de Mahalanobis qui permet de normaliser les valeurs des attributs.

Cette mesure de distance se définit comme suit:

$$D = (x - m)^T \; C^{-1} \; (x - m) \qquad (46)$$

où C : Matrice de covariance des attributs de la population d'entraînement,

m : vecteur moyen des attributs de la population d'entraînement,

x : vecteur d'attributs de l'objet à classifier.

L'évaluation du classificateur s'effectue par la méthode "leave-one-out" dont le biais généré est faible. Sun et Wee[81], lors d'une étude similaire portant sur la classification des images LANDSAT, utilisent cette méthode d'évaluation car celle-ci permet d'augmenter le nombre total d'échantillons des populations d'entraînement et de test.

A la figure 4.1, l'organigramme des étapes de notre projet est présenté. A chacune de ces étapes est associée le nom du programme implanté (entre paranthèses) ainsi qu'une synthèse des techniques et des variables étudiées. L'influence de ces dernières est analysée sous forme structurée au moyen des quatre études décrites à la section suivante.

Pour ces études, les soixante radioautogrammes sélectionnés sont divisés en deux séries de trente images chacune. La première série de trente images forme la population utilisée lors des études 1, 2 et 3. Sur chacune de ces images, nous segmentons manuellement un organite de chaque catégorie. Ainsi, une population représentative est obtenue puisque cette approche tient compte de la variabilité des images. A l'aide de cette population test, nous déterminons la meilleure démarche analytique possible. Une fois celle-ci identifiée, elle est appliquée directement sur la deuxième série d'images. Tous les organites de ces images sont extraits formant ainsi une population d'échantillons suffisament grande pour évaluer la robustesse de la méthode. Ces résultats devraient indiquer s'il est possible d'envisager

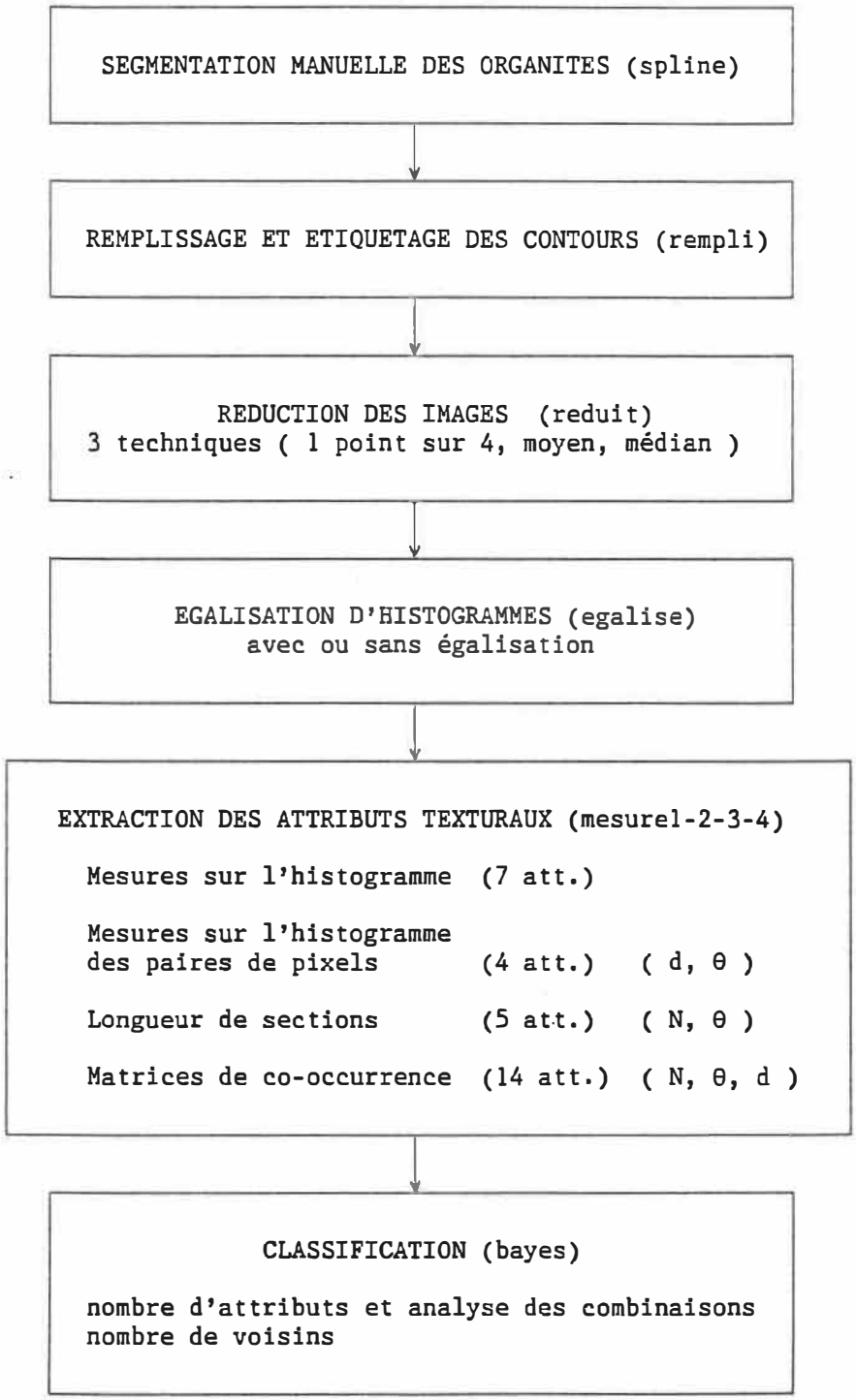


Figure 4.1. Organigramme des étapes de notre projet.

l'automatisation ou la semi-automatisation de l'analyse des images radioautographiques à l'aide de cette méthode.

4.5) Méthodologie

ETUDE #1: Comparaison des méthodes d'analyse de textures et effet de la technique d'égalisation d'histogrammes

Le but de cette étude consiste à comparer les quatre méthodes d'analyse de textures en faisant varier les paramètres suivants:

- avec ou sans égalisation d'histogrammes préalable;
- nombre de classes de niveaux de gris dans l'image (8, 16, 32, 64) (applicable aux méthodes 3.6 et 3.7);
- nombre d'attributs utilisés pour effectuer la classification (1 à 6) ainsi que toutes les combinaisons possibles de ceux-ci;
- nombre de voisins (**k**) considérés par le classificateur.

Lors de cette étude, les paramètres suivants demeurent fixes:

- la technique de réduction d'images : filtrage moyen;
- la distance d'analyse unitaire (applicable aux méthodes 3.5 et 3.7);
- le moyennage des différentes directions d'analyse (applicable aux méthodes 3.5, 3.6 et 3.7).

Cette étude, appliquée à la population 1, permet donc de découvrir la meilleure méthode d'analyse de textures et le nombre optimal de niveaux de gris, d'identifier les attributs les plus discriminants ainsi que leur nombre optimal et de constater finalement l'effet de la technique d'égalisation d'histogrammes.

ETUDE #2: Effet des techniques de réduction d'images

Le but de cette deuxième étude est de comparer l'effet des trois techniques de réduction d'images. Pour ce faire, elles sont appliquées aux quatre méthodes étudiées lors de l'étude 1 avec le mode d'utilisation identifié comme le meilleur pour chacune de celles-ci.

ETUDE #3: Effets de la distance et de l'orientation d'analyse

Premièrement, pour étudier l'effet de la distance d'analyse, les résultats de la classification obtenus avec des distances de 1, 2, 3 et 4 pixels sont comparés. Deuxièmement, pour analyser l'effet de l'orientation d'analyse, la moyenne et la déviation standard d'un attribut donné en fonction de la direction (0°, 45°, 90°, 135° ainsi que l'analyse multidirectionnelle) sont compilées pour chacune des catégories d'organites. Ces valeurs sont ensuite comparées dans le but d'analyser leur variabilité.

ETUDE #4: Analyse de la robustesse de la démarche choisie

Nous appliquons finalement à la deuxième population la méthodologie considérée comme la meilleure afin d'évaluer sa robustesse. Pour ce faire, les échantillons de la population 2 sont classifiés en utilisant le classificateur optimal identifié lors des études 1, 2 et 3.

4.6) Synthèse

Nous avons constaté que la caractérisation et la classification des organites cellulaires par des méthodes d'analyse de textures sont régies par de multiple facteurs:

- la technique de réduction;
- la technique d'égalisation;
- la méthode d'analyse de textures proprement dite ainsi que ses variables soit **N**, **d** et **θ**;
- le nombre et le choix des attributs.

Quatre études ont donc été élaborées pour analyser l'effet de ces facteurs sur la classification et ce, afin de dégager la démarche optimale.

CHAPITRE 5

RESULTATS ET DISCUSSION

PARTIE I - RESULTATS ET DISCUSSION PORTANT SUR LES QUATRE ETUDES

5.1) Procédure d'acquisition et de pré-traitement des images

La numérisation des soixante radioautogrammes a été effectuée de façon à ce que le niveau moyen de l'image se situe dans l'intervalle des valeurs de luminance 128±10. De plus, le biais introduit par la caméra et le système d'amplification a été corrigé par logiciel suivant la technique présentée à la section 4.3.

5.2) Critères de sélection de la démarche optimale

Au cours de ce chapitre, les résultats obtenus sont présentés pour chacune des quatre études. Par ordre d'importance, les critères de sélection utilisés afin de dégager la démarche optimale sont les suivants:

1) pourcentages de bonnes classifications;

2) nombre minimal de voisins;

3) nombre maximal de combinaisons;

4) temps de traitement.

La motivation sous-jacente à la sélection de ces critères est décrite au fur et à mesure de leur utilisation.

5.3) Etablissement de la population 1

La première série de trente images constitue la population cible des études 1, 2 et 3. Pour chacune de ces images, un noyau, une gouttelette de lipide et une mitochondrie ont été segmentés manuellement grâce à l'outil interactif basé sur les splines cubiques. Les quatre-vingt-dix échantillons sont donc représentatifs de la population puisqu'ils tiennent compte de la variabilité des images radioautographiques.

Les contours sont ensuite remplis pour former des masques de travail. Ainsi, à chacune des trente images correspond un masque de travail où les objets sont étiquetés et identifiés. Ces masques, couplés aux images cytologiques, permettent d'analyser individuellement les différentes structures cellulaires.

5.4) Présentation des résultats

Les résultats obtenus pour chacune des méthodes d'analyse de textures étudiées sont présentés sous forme de tableaux en suivant la convention décrite à la figure 5.1.

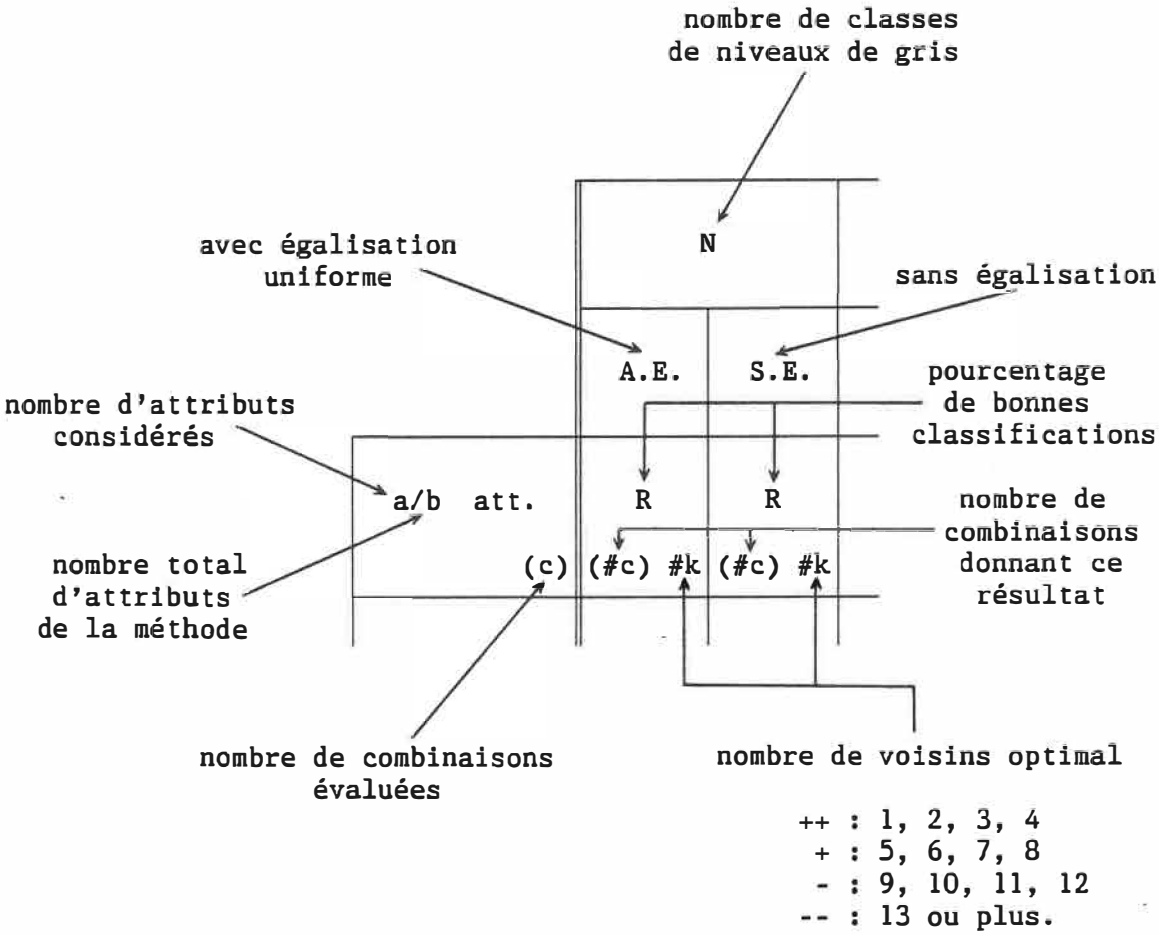


Figure 5.1. Convention adoptée pour la présentation des résultats.

Les différentes colonnes des tableaux sont fonction du nombre de classes de niveaux de gris et sont subdivisées en deux, soit avec ou sans égalisation d'histogrammes. Les lignes représentent le nombre d'attributs considérés et le nombre de combinaisons évaluées est inscrit entre paranthèses. Finalement, dans chacune des cases du tableau, on inscrit le pourcentage de bonnes classifications ainsi que le nombre de combinaisons et la valeur minimale de **k** ayant permis d'obtenir ce résultat.

5.5) Résultats et discussion portant sur l'étude 1

Au tableau 5.1, on retrouve les résultats obtenus à partir des attributs extraits des histogrammes des quatre-vingt-dix organites. Les variables maintenues fixes lors de cette étude sont, rappelons-le, la réduction par filtrage moyen ainsi que la distance d'analyse unitaire et la moyenne selon les quatre orientations.

Les résultats de la méthode basée sur la différence des pixels et de leurs huit plus proches voisins sont fournis au tableau 5.2. Le tableau 5.3 contient les résultats obtenus au moyen des matrices des longueurs de sections, et finalement, on présente les résultats de la méthode des matrices de co-occurrences au tableau 5.4.

	256	
	A.E.	S.E.
1/7 att. (7)	78 (1) --	78 (1) -
2/7 att. (21)	82 (1) --	87 (1) +
3/7 att. (35)	81 (3) -	**91** (1) -
4/7 att. (35)	83 (1) -	86 (4) -
5/7 att. (21)	81 (1) --	89 (1) --
6/7 att. (7)	80 (1) --	83 (1) --
7/7 att. (1)	76 (1) --	80 (1) --

Tableau 5.1. Résultats des mesures sur l'histogramme.

Technique de réduction: filtrage moyen.

	256	
	A.E.	S.E.
1/4 att. (1)	66 (2) -	63 (2) -
2/4 att. (6)	81 (1) --	86 (1) -
3/4 att. (4)	89 (1) ++	**90** (1) ++
4/4 att. (1)	83 (1) --	87 (1) --

Tableau 5.2. Résultats des mesures sur l'histogramme basé sur la différence de paires de pixels.

Technique de réduction: filtrage moyen,
Distance d'analyse : 1,
Orientation d'analyse : Σ.

	8		16		32		64	
	A.E.	S.E.	A.E.	S.E.	A.E.	S.E.	A.E.	S.E.
1/5 att.	87	84	74	92	73	79	74	76
(5)	(1) --	(1) -	(1) --	(1) +	(1) --	(1) --	(1) --	(1) --
2/5 att.	96	90	93	97	93	97	89	93
(10)	(1) ++	(1) --	(2) --	(2) +	(1) -	(1) --	(3) -	(3) --
3/5 att.	96	89	92	96	94	**98**	92	96
(10)	(3) ++	(2) --	(5) --	(3) +	(1) +	(1) ++	(1) --	(2) +
4/5 att.	96	87	93	94	94	97	91	96
(5)	(1) ++	(2) --	(1) --	(1) --	(2) +	(2) +	(2) ++	(2) -
5/5 att.	93	86	91	92	92	96	90	96
(1)	(1) ++	(1) --	(1) -	(1) --	(1) -	(1) --	(1) +	(1) -

Tableau 5.3. Résultats de la méthode des matrices des longueurs de sections.

Technique de réduction: filtrage moyen,
Orientation d'analyse : Σ.

	8		16		32		64	
	A.E.	S.E.	A.E.	S.E.	A.E.	S.E.	A.E.	S.E.
1/14 att.	78	78	79	78	80	79	80	78
(14)	(2) --	(1) +	(1) +	(1) +	(1) +	(1) +	(1) +	(1) +
2/14 att.	98	93	98	99	97	99	97	99
(91)	(4) -	(6) -	(3) ++	(1) ++	(6) +	(6) ++	(7) -	(8) ++
3/14 att.	98	99	98	98	98	**100**	98	100
(364)	(2) -	(4) ++	(4) ++	(5) +	(7) +	(3) ++	(18) ++	(5) ++
4/14 att.	98	98	98	98	98	100	99	100
(1001)	(6) -	(26) ++	(11) +	(34) ++	(29) ++	(5) ++	(10) ++	(26) ++
5/14 att.	99	98	99	98	98	100	99	100
(2002)	(2) -	(11) ++	(5) +	(82) ++	(127) +	(6) ++	(30) ++	(38) ++
6/14 att.	99	98	99	99	99	100	99	100
(3003)	(4) -	(22) +	(5) --	(8) ++	(6) --	(8) ++	(84) ++	(55) ++

Tableau 5.4. Résultats de la méthode des matrices de co-occurrences.

Technique de réduction: filtrage moyen,
Distance d'analyse : 1,
Orientation d'analyse : Σ.

Dans le but d'alléger la discussion qui suit, associons les lettres suivantes aux méthodes:

A) mesures sur l'histogramme (1° ordre);

B) mesures sur l'histogramme basé sur la différence (1° ordre);

C) mesures sur les matrices de longueurs de sections (1° ordre);

D) mesures sur les matrices de co-occurrences (2° ordre).

5.5.1) Comparaison globale des méthodes d'analyse de textures

D'une façon générale, en regardant uniquement les pourcentages de bonnes classifications, on constate que les méthodes A et B offrent des résultats similaires et que les méthodes C et D s'avèrent les plus performantes.

En ce qui a trait aux deux premières méthodes, on peut dire que les méthodes A et B sont équivalentes. En effet, même si le pourcentage de classification obtenu par la méthode A est légèrement supérieur à celui de la méthode B (1° critère), on note, pour cette dernière, que le nombre de voisins requis pour effectuer la classification est inférieur (2° critère). Le nombre de voisins optimal constitue un indice supplémentaire pour juger des performances puisque celui-ci diminue avec l'augmentation du pouvoir discriminant des attributs.

En comparant les deux dernières méthodes d'analyse de textures, on

peut observer que la méthode des co-occurrences est sans aucun doute la meilleure; ce qui corrobore les résultats obtenus lors de certaines études théoriques[66] et pratiques[63,82].

Ce résultat s'explique par le fait que la méthode D considère l'organisation spatiale des pixels (2° ordre) alors que les trois premières ne mesurent que des propriétés du premier ordre. Néanmoins, la méthode des longueurs de sections (méthode C) se démarque des méthodes A et B puisqu'elle tient compte de l'agencement des niveaux de gris dans un voisinage local alors que les deux premières méthodes fournissent des mesures plutôt globales.

5.5.2) Effet du nombre d'attributs

En observant individuellement les colonnes de résultats, on peut remarquer que les performances tendent à augmenter graduellement jusqu'à un maximum à partir duquel elles se détériorent. Ce comportement était attendu et suggère l'utilisation de trois attributs comme étant le nombre optimal pour effectuer la classification. Il est à noter toutefois que ce phénomène n'intervient pas pour la méthode D. Nous y reviendrons à la section 5.5.5.

5.5.3) Effet du nombre de classes de niveaux de gris

En comparant les résultats des différentes colonnes du tableau 5.3,

on constate que les meilleurs performances de la méthode des longueurs de sections sont atteintes lors de l'utilisation de 32 classes de niveaux de gris. Soulignons que la méthode commence à se dégrader à 64 classes à cause de la nature des images. En effet, tel que mentionné à la section 3.6, cette méthode est reconnue pour être particulièrement sensible aux textures "bruyantes".

Dans le cas du tableau 5.4, les deux premiers critères de sélection ne nous permettant pas de tirer de conclusions significatives entre 32 et 64 niveaux de gris, il nous faut recourir au plus grand nombre de combinaisons donnant ces pourcentages maximums (3° critère de sélection). On peut ainsi constater que l'augmentation du nombre de classes de niveaux de gris améliore les performances de la méthode, car celle-ci, contrairement à la méthode précédente, est beaucoup moins sensible au bruit.

5.5.4) Effet de la technique d'égalisation d'histogrammes

Le dernier aspect qu'il nous reste à couvrir est l'effet de la technique d'égalisation. A ce propos, les résultats présentés sont surprenants au premier abord puisque, en général, la technique d'égalisation d'histogrammes dégrade les performances.

La raison principale est que l'utilisation de la technique d'égalisation modifie la distribution des niveaux de gris (propriétés

du 1° ordre). En effet, l'égalisation d'histogrammes fusionne des niveaux de gris et modifie les intervalles de valeurs entre ceux-ci. Le fait de modifier les caractérisitiques du premier ordre a donc un effet beaucoup plus prononcé sur les trois premières méthodes lesquelles mesurent des propriétés du premier ordre.

Une exception notable survient cependant lors de l'utilisation de la méthode des longueurs de sections avec 8 niveaux de gris. Dans ce cas, considérons premièrement la situation lorsque la technique d'égalisation n'est pas utilisée. Les histogrammes des objets se concentrant dans les valeurs de luminance moyennes (gris moyen), on peut conclure à un manque de discrimination relatif au nombre insuffisant de classes dans cette région. En deuxième lieu, lorsque la technique est appliquée, on force l'étirement des histogrammes, soit l'utilisation de plus de classes pour séparer la région critique; ce qui entraîne par le fait même un meilleur pouvoir discriminant de la méthode. Cette situation ne se produit pas lorsque l'on considère 16, 32 et 64 classes, car un nombre suffisant de classes de niveaux de gris partitionne alors la région critique.

Bref, nous pouvons conclure, d'une façon générale, qu'il est préférable de ne pas procéder à l'égalisation lorsque l'on utilise préalablement le critère de normalisation qui consiste à obtenir un niveau moyen des images semblable (cf. section 5.1). Nous pouvons constater, dans notre cas, que ce choix est supérieur à celui utilisant

la technique d'égalisation. Toutefois, dans d'autres situations, l'égalisation d'histogrammes s'avérerait peut-être un choix judicieux de normalisation; en particulier, si l'usager n'a pas le contrôle de l'illumination au moment de la numérisation des images.

5.5.5) Choix optimal

Rappelons que notre but est d'identifier la démarche la plus performante possible, soit la meilleure méthode d'analyse de textures utilisée avec les facteurs qui l'optimisent. La recherche de la démarche optimale nous a donc amenés aux choix suivants:

- méthode des matrices de co-occurrences;
- sans égalisation d'histogrammes;
- avec 32 classes de niveaux de gris;
- avec trois attributs pour effectuer la classification.

Les deux premiers choix étant évidents, discutons des deux derniers. Il est certain que les performances du tableau 5.4 s'accroissent en fonction du nombre d'attributs et du nombre de classes de niveaux de gris; le meilleur résultat survenant avec 6 attributs et 64 niveaux de gris. Cependant, dans l'optique d'une éventuelle automatisation, nous avons avantage à réduire ceux-ci afin d'obtenir un temps de traitement raisonnable (4° critère). Quel est donc le compromis acceptable? Inspirons-nous des résultats obtenus pour les

trois premières méthodes car ceux-ci nous fournissent un indice quant au choix optimal. Ainsi, nous croyons que l'utilisation de trente-deux classes de niveaux de gris et de trois attributs pour effectuer la classification s'avère un choix judicieux. Sun et Wee[81], lors d'une étude similaire, optent eux-aussi pour l'utilisation de 32 classes afin de minimiser le temps de traitement. De plus, Lejeune et al.[83] ne retiennent eux-aussi que trois attributs parmi ceux évalués.

Il est à noter que dans le cadre de ce projet, le temps de traitement (4° critère) ne constitue pas un critère déterminant dans la sélection du choix optimal, puisque ce genre d'analyse ne nécessite pas un traitement en temps réel. En effet, l'interprétation des images radioautographiques peut se faire en temps différé, ce qui nous permet d'avoir comme priorité d'optimiser les performances globales du système de reconnaissance de formes. Rappelons que cette optimisation constitue l'objectif du projet qui se reflète par le premier critère de sélection, soit d'obtenir le meilleur pourcentage de bonnes classifications possible.

Mentionnons que certains choix ont été faits afin de favoriser une certaine rapidité de calcul et ce, sans néanmoins agir au détriment des performances du système, à savoir: procéder à la réduction des images ainsi que de minimiser le nombre de classes de niveaux de gris et d'attributs.

5.5.5.1) Nature des attributs

Cette décision nous amène à vouloir connaître la nature des trois trios d'attributs retenus parmi les quatorze attributs disponibles (cf. section 3.7). Les trois combinaisons qui ont permis d'obtenir ces performances sont:

- MC5, MC8 et MC13;
- MC7, MC8 et MC13;
- MC8, MC13 et MC14.

où MC5 : moment différentiel inverse;

MC7 : moyenne de la distribution de la première série de diagonales;

MC8 : variance de la distribution de la première série de diagonales;

MC13: moment diagonal;

MC14: second moment diagonal.

Les performances individuelles des quatorze paramètres de cette méthode sont fournis au tableau 5.5. En observant celles-ci, on se rend compte de l'importance d'évaluer les combinaisons d'attributs puisque les meilleurs trios sont loin d'être composés des meilleurs attributs lorsque considérés individuellement (cf. section 3.2.2). En effet, les attributs MC5, MC7, MC8, MC13 et MC14 occupent respectivement les 5°, 9°, 12°, 7° et 8° rang.

% CLASSIFICATION	ATTRIBUTS
79	MC12
74	MC3
73	MC11
73	MC6
72	MC5
67	MC9
67	MC13
62	MC14
62	MC7
62	MC1
52	MC10
51	MC8
51	MC2
51	MC4

Tableau 5.5. Performances individuelles des attributs de la méthode de co-occurrences.

Méthode utilisée : co-occurrences (d=1, $\theta=\Sigma$, N=32),
Technique de réduction : filtrage moyen,
Technique d'égalisation : aucune.

De plus, en comparant les performances individuelles de ces mêmes attributs (72%, 62%, 51%, 67% et 62%) aux performances globales des trios (100%), on réalise la force qu'acquièrent ces attributs lorsqu'ils sont regroupés.

Il a déjà été mentionné qu'il s'avère difficile de comprendre les caractéristiques texturales spécifiques mesurées par chacun de ces attributs. Il en est de même lorsque l'on tente d'expliquer pourquoi certaines combinaisons sont plus performantes que d'autres. Il est bien connu qu'en général, dans un ensemble d'attributs, certains se nuisent (redondance) alors que d'autres s'entraident (synergie).

A la lumière des résultats du tableau 5.6, qui présente les meilleures combinaisons trouvées en considérant 1, 2, 3 et 4 attributs pour effectuer la classification, certaines observations peuvent être émises.

En observant les groupements de 1 et 2 attributs, on peut noter que certains de ceux-ci (MC1, MC3, MC6 et MC12) ne participent à aucun groupement d'ordre supérieur. Une analyse statistique plus approfondie permettrait peut-être de comprendre pourquoi. Il pourrait s'agir, entre autres, de redondance.

NOMBRE D'ATTRIBUTS CONSIDERES	MEILLEURES COMBINAISONS
1	MC12
2	MC1 MC5
	MC3 MC5
	MC5 MC6
	MC5 MC11
	MC5 MC12
	MC6 MC12
3	MC5 MC8 MC13
	MC7 MC8 MC13
	MC8 MC13 MC14
4	MC7 MC8 MC10 MC13
	MC7 MC8 MC13 MC14
	MC7 MC9 MC10 MC11
	MC8 MC10 MC13 MC14
	MC9 MC10 MC11 MC14

Tableau 5.6. Meilleures combinaisons obtenues en fonction du nombre d'attributs considérés.

Méthode utilisée : co-occurrences ($d=1$, $\Theta=\Sigma$, $N=32$),
Technique de réduction : filtrage moyen,
Technique d'égalisation : aucune.

En considérant les combinaisons de 3 et 4 attributs, on remarque que mis à part les cinq attributs retenus, à savoir MC5, MC7, MC8, MC13 et MC14, deux autres attributs semblent intéressants. Ceux-ci, soit MC10 et MC11, représentent respectivement la moyenne et la variance de la deuxième série de diagonales. Ces sept attributs constituent donc un ensemble particulièrement efficace pour discriminer les textures des organites cellulaires.

Un autre fait à noter concerne MC8 et MC13 qui sont toujours présents simultanément. La complicité de ceux-ci permet de supposer qu'ils créent une synergie.

Lors de l'analyse de cellules cervicales, citons les travaux de Pressman[65] qui mentionne la puissance du paramètre MC13 ainsi que ceux de Nguyen et al.[84] qui soulignent les performances de MC7, MC8 et MC10.

Conners et al.[66,85] affirment que les cinq attributs les plus couramment utilisés, à savoir MC1, MC2, MC3, MC4 et MC6, ne peuvent mesurer l'information importante contenue dans les matrices de co-occurrences. Nous avons pu constater, en effet, que la plupart des utilisateurs de cette méthode n'évaluent pas les performances des autres attributs disponibles. Il s'est avéré, dans notre cas, que parmi les attributs retenus (MC5, MC7, MC8, MC10, MC11, MC13 et MC14), aucun ne fait partie du groupe des cinq attributs couramment utilisés.

Il semble donc important d'évaluer les performances de tous les attributs pouvant être extraits des matrices de co-occurrences.

5.6) Résultats et discussion portant sur l'étude 2

Pour chacune des quatre méthodes étudiées précédemment, analysons l'influence de la technique de réduction d'images. Cette étude porte sur les meilleurs résultats de chacune des méthodes (caractères gras dans les tableaux 5.1, 5.2, 5.3, et 5.4). On retrouve, au tableau 5.7, les résultats de classification obtenus avec les trois techniques de réduction.

REDUCTION / METHODE	MOYEN	1 POINT /4	MEDIAN
A	91	90	90
B	90	89	89
C	98	96	96
D	100	99	99

Tableau 5.7. Comparaison des techniques de réduction.

(Les résultats sont exprimés en pourcentage de bonnes classifications)

Il semble que la technique par filtrage moyen présente les meilleurs résultats mais ne pouvant tirer de conclusion significative, reportons cette analyse dans le cadre de la quatrième étude. Etant donné que celle-ci a pour but de tester la robustesse de la méthode choisie sur une population considérable d'échantillons, elle permettra peut-être de mieux évaluer l'effet des techniques de réduction.

5.7) Résultats et discussion portant sur l'étude 3

Cette étude a pour but de vérifier nos hypothèses de départ, soit l'utilisation de la distance d'analyse unitaire et l'analyse multidirectionnelle.

5.7.1) Effet de la distance d'analyse

Au tableau 5.8, on peut voir que les performances de la méthode (pourcentages de bonnes classifications) diminuent avec l'augmentation de la distance d'analyse.

DISTANCE D'ANALYSE (pixels)	1	2	3	4
% DE CLASSIFICATION	100	93	87	84

Tableau 5.8. Comparaison des performances du trio MC7-MC8-MC13 en fonction de la distance d'analyse

Ces résultats viennent confirmer notre hypothèse de départ et corroborent les conclusions émises à ce sujet par différents auteurs[63,65,66,67]. Il est à noter toutefois que Zucker et Terzopoulos[64], tout en proposant un outil pour déterminer la valeur optimale de **d**, soulignent l'importance d'étudier l'influence de ce paramètre car la valeur optimale peut varier en fonction de la nature des images. De plus, ils mentionnent que dans certaines applications, il est avantageux d'utiliser parallèlement plusieurs valeurs de **d** distinctes.

Pour mieux comprendre cette suggestion, considérons les deux types de textures, soit celles de nature déterministe (régulière, structurée) et celles de nature stochastique (irrégulière, aléatoire). Les patrons déterministes, habituellement de conception humaine, sont constitués d'un arrangement régulier, tel qu'un mur de briques, un vêtement tissé. Dans ce cas, les valeurs optimales de **d** sont celles qui correspondent au pas de répétition des patrons de base (primitives). Par contre, dans le cas de textures stochastiques, telles que celles de nos images, il semble qu'il soit préférable d'utiliser une distance unitaire, car la corrélation entre les luminances diminue en fonction de la distance, véhiculant ainsi moins d'information concernant les textures.

5.7.2) Effet de l'orientation d'analyse

Les moyennes et les déviations standards du paramètre MC12 en

fonction de l'orientation d'analyse (0°, 45°, 90°, 135° et moyenne) sont présentées au tableau 5.9 et ce, pour les trois types d'organites cellulaires.

En comparant simplement ces résultats, on peut conclure que les images répondent au principe d'isotropie rotationnelle et que le calcul de la moyenne selon les quatre orientations s'avère donc représentatif.

	NOYAU		MITOCHONDRIE		GOUTTELETTE DE LIPIDE	
	μ	σ	μ	σ	μ	σ
0°	3.37	0.16	2.50	0.21	2.98	0.31
45°	3.35	0.16	2.42	0.21	2.97	0.33
90°	3.37	0.16	2.46	0.21	2.98	0.32
135°	3.35	0.16	2.42	0.22	2.98	0.32
Σ	3.36	0.16	2.46	0.21	2.99	0.32

Tableau 5.9. Comparaison des moyennes et des déviations standards du paramètre MC12 en fonction de l'orientation d'analyse, pour les trois types d'organites cellulaires.

Méthode utilisée : co-occurrences (**d**=1, **N**=32),
Technique de réduction : filtrage moyen,
Technique d'égalisation : aucune.

5.8) Synthèse

Avant de poursuivre, résumons la démarche optimale:

- matrices de co-occurrences ($d=1$, $\theta=\Sigma$, $N=32$);
- sans égalisation d'histogrammes;
- trois attributs (MC5-MC8-MC13, MC7-MC8-MC13 ou MC8-MC13-MC14),
- classificateur des **k** plus proches voisins et distance de Mahalanobis calculée sur trois voisins.

5.9) Etablissement de la population 2

La deuxième série de trente images constitue la population test de l'étude 4. Pour chacune de ces images, tous les organites cellulaires appartenant aux trois types étudiés sont segmentés, incluant les organites en bordure de scène. Cette population est ainsi formée de 45 noyaux, 453 mitochondries et 236 gouttelettes de lipides.

Selon la démarche décrite à la section 5.3, les contours sont ensuite remplis pour former des masques de travail et les objets sont étiquetés et identifiés.

Dans cette étude, les quatre-vingt-dix échantillons du groupe 1 et les paramètres de la démarche optimale identifiés précédemment définissent le classificateur utilisé pour classifier la population 2.

5.10) Résultats et discussion portant sur l'étude 4

Les pourcentages de bonnes classification de la population 2 sont fournis au tableau 5.10 et ce, pour les trois techniques de réduction.

	TECHNIQUES DE REDUCTION D'IMAGES		
	MOYEN	1 POINT /4	MEDIAN
% DE CLASSIFICATION	94	88	87

Tableau 5.10. Comparaison de la robustesse de la démarche finale selon les trois techniques de réduction.

Méthode utilisée : co-occurrences (d=1, $\theta=\Sigma$, N=32),
Technique d'égalisation : aucune,
Attributs utilisés : MC7, MC8 et MC13.

D'une part, en observant conjointement les résultats des tableaux 5.7 et 5.10, il s'avère finalement que la technique de réduction par filtrage moyen domine sur les deux autres. Lors de l'étude 2, nous n'avions pas noté de différences importantes mais l'utilisation, dans l'étude actuelle, d'une population considérable d'échantillons fait ressortir l'avantage d'utiliser le filtrage moyen. Ce résultat peut s'expliquer, par l'action du filtrage moyen sur l'image, et par conséquent, sur la distribution des nuages dans les matrices de

co-occurrences. En effet, ce filtre de type passe-bas tend à concentrer leur distribution, ce qui rend les attributs plus représentatifs et discriminants.

D'autre part, il est encourageant de constater qu'un pourcentage de bonnes classifications de 94% est obtenu, démontrant ainsi la robustesse de la méthode choisie. Tel que proposé lors de l'étude 1, le pourcentage est évalué en considérant trois voisins **k** pour effectuer la classification. Toutefois, afin de s'assurer que cette valeur est optimale pour classer une population considérable d'échantillons, les performances ont été évaluées pour des valeurs de **k** comprises entre un et dix-huit (1 à $2\sqrt{N}$). En effet, la grande variabilité des textures des organites cellulaires pourrait peut-être bénéficier d'un plus grand nombre de voisins.

Le tableau 5.11 présente les pourcentages de classification obtenus pour les différentes valeurs de **k** ainsi que le nombre d'échantillons non classés. Il est à noter que le calcul des pourcentages tient compte de ces derniers puisqu'ils sont considérés comme mal classés.

Nous pouvons observer des pourcentages de bonnes classifications variant entre 92% et 95%. Le meilleur cas, 95%, survient avec l'utilisation de sept voisins.

NOMBRE DE VOISINS	POURCENTAGE DE CLASSIFICATION	NOMBRE D'ECHANTILLONS NON-CLASSES
1	93	0
2	92	31
3	94	0
4	92	28
5	94	3
6	93	11
7	95	4
8	93	14
9	94	6
10	93	21
11	94	4
12	93	13
13	94	2
14	94	8
15	94	5
16	94	8
17	94	5
18	94	6

Tableau 5.11. Résultats de classification obtenus en fonction du nombre de voisins.

Méthode utilisée : co-occurrences ($d=1$, $\Theta=\Sigma$, $N=32$),
Technique d'égalisation : aucune,
Technique de réduction : filtrage moyen,
Attributs utilisés : MC7, MC8 et MC13.

D'une façon générale, on peut constater qu'il est préférable d'utiliser un nombre impair de voisins pour minimiser le nombre d'échantillons non classés. Ainsi, nous suggérons l'utilisation de 3, 5 ou 7 voisins.

Il est à noter que lors de la segmentation manuelle des organites, nous avons constaté que les deux classes d'organites présentant la plus grande ressemblance sont les mitochondries et les gouttelettes de lipides. Cette ressemblance se reflète dans les résultats du tableau 5.12, qui présente l'analyse détaillée des résultats de la classification.

		CLASSES ASSIGNEES			
		NOYAU	MITOCHONDRIE	GOUTTELETTE DE LIPIDE	TOTAL
CLASSES EXACTES	NOYAU	41	1	3	45
	MITOCHONDRIE	0	439	13	452
	GOUTTELLETTE DE LIPIDE	7	12	214	233
	TOTAL	48	452	230	730

% bonnes classifications = Nb. bien classés/Nb. total: 694/734 = 95%

où Nb. total = Nb. classés + Nb. non classés.

Tableau 5.12. Présentation détaillée des résultats de classification. (nombre de voisins utilisés : 7)

5.11) Démarche finale proposée

Cette dernière étude clôt la présentation et la discussion des résultats et nous amène à choisir finalement la démarche suivante:

- **matrices de co-occurrences ($d=1$, $\theta=\Sigma$, $N=32$)**
- **réduction par filtrage moyen**
- **sans égalisation d'histogrammes**
- **trois attributs (MC5-MC8-MC13, MC7-MC8-MC13 ou MC8-MC13-MC14)**

De plus, en utilisant le classificateur des **k** plus proches voisins, on devrait utiliser trois, cinq ou sept voisins.

PARTIE II - DEVELOPPEMENTS FUTURS ET AMELIORATIONS PROPOSEES

Le résultat final obtenu (95%) s'avère concluant quant au développement d'une méthode semi-automatique d'analyse d'images radioautographiques et prometteur dans l'optique d'une éventuelle automatisation. Abordons ces deux possibilités.

5.12) Développement d'une méthode semi-automatique

A partir des travaux accomplis lors de ce projet, nous proposons le développement d'une méthode semi-automatique où la présence de l'utilisateur ne serait requise que pour définir les contours des objets dans la scène. Cette étape pouvant s'effectuer rapidement grâce à l'outil de segmentation développé et basé sur la technique d'interpolation des splines cubiques.

L'organigramme de la figure 5.2 résume la méthodologie proposée en faisant ressortir (caractères gras) les modules qu'il resterait à développer.

En ce qui concerne le traitement proprement dit, nous savons que la séparation des grains agglomérés ne pose aucun problème majeur[36,75,76]. Pour plus d'informations concernant les différents aspects relatifs à la segmentation et au comptage des grains d'argent, le lecteur peut se référer à l'article de Reep et Creegan[86].

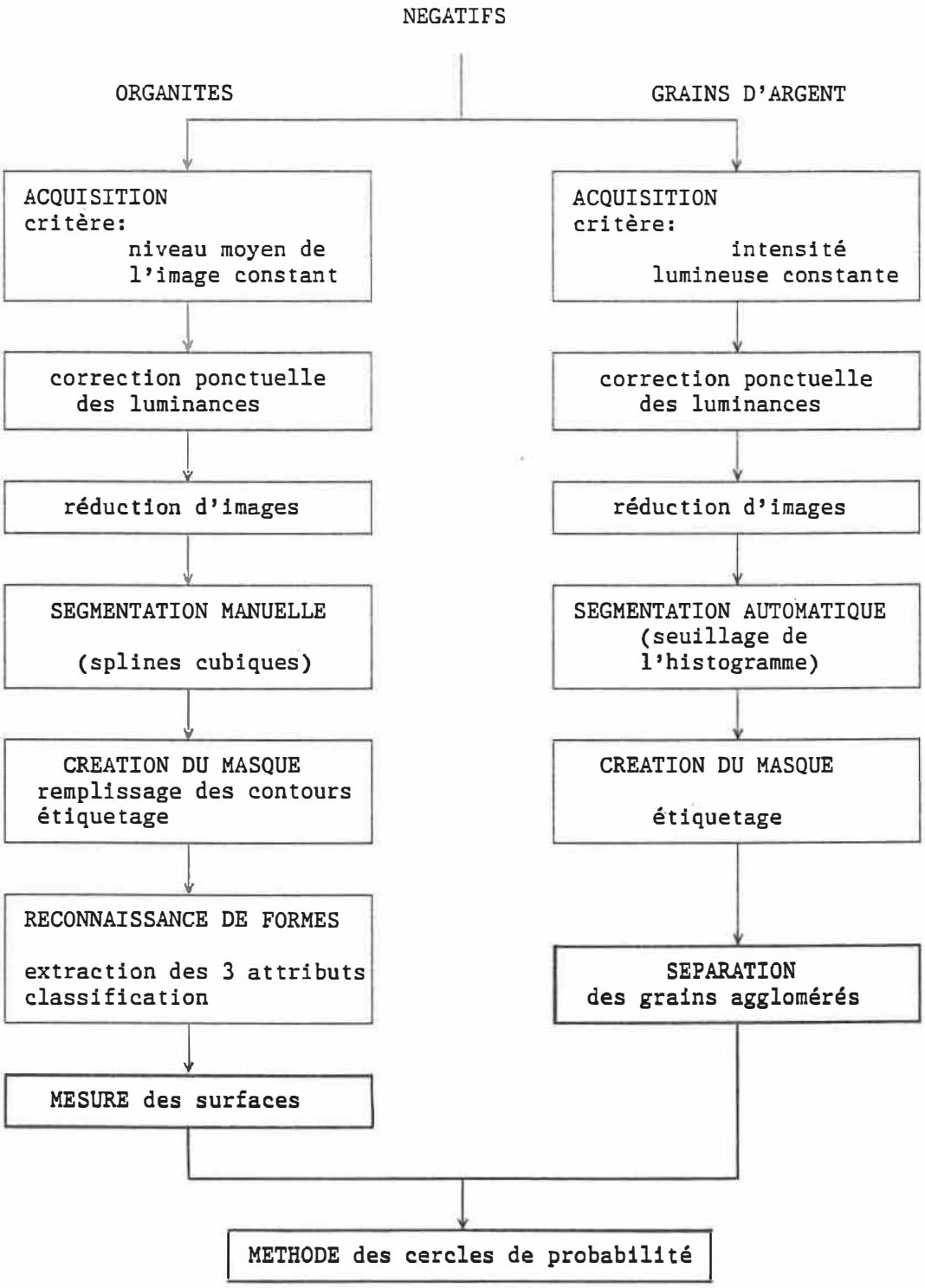


Figure 5.2 Organigramme de la méthode semi-automatique

Considérons les deux modules de mesures. Dans un premier temps, afin de mesurer la surface des organites, il suffit, au moyen d'une procédure de calibrage adéquate, de mettre en relation le nombre de pixels des objets avec la surface réelle correspondante. Dans un deuxième temps, l'implantation de la méthode des cercles de probabilité pourrait se faire comme suit:

- localiser les centres de gravité des grains;
- créer un masque de travail i.e. une image formée de cercles de rayon pré-défini entourant les centres de gravité;
- et, par intersection avec l'image des organites segmentés et identifiés, compiler le pourcentage de surface des cercles occupés par les différentes classes d'organites.

En réalité, afin de développer l'outil informatisé, la majeure partie du travail réside dans l'intégration des différents modules développés et surtout dans la programmation de l'interface avec l'usager. En effet, il est important de réaliser que les utilisateurs potentiels de ce logiciel ne possèdent pas de connaissances approfondies de l'informatique et qu'une attention toute particulière doit être portée à l'aspect de convivialité. Un logiciel par menus comprenant des fonctions d'acquisition, de traitements, d'affichages de résultats (tableaux, graphiques) et de gestion de fichiers (impression, sauvegarde, destruction, etc.) serait donc adéquat.

Finalement, une phase de validation devrait être considérée.

5.12.1) Variantes proposées

Dans le cadre du développement d'une méthode semi-automatique, on pourrait envisager l'utilisation d'une autre forme de classificateur pour accélérer le temps de calcul.

Au lieu de classifier les vecteurs de textures à l'aide du classificateur des **k** plus proches voisins basé sur la distance de Mahalanobis, on pourrait utiliser les vecteurs moyens de chacune des trois classes. Ainsi, il suffirait de calculer la distance de Mahalanobis entre le vecteur de textures de l'objet inconnu et chacun des trois vecteurs caractéristiques, pour finalement associer l'objet inconnu à la classe ayant fourni la valeur minimale de distance. Le temps de traitement serait ainsi réduit, puisqu'au lieu de calculer **N** distances (nombre d'échantillons de la population d'entraînement), trois suffiraient avec cette approche.

Pour ce faire, les vecteurs caractéristiques seraient constitués des valeurs moyennes des attributs des matrices de co-occurrences calculées à partir de la population 1. Ces valeurs moyennes ainsi que les déviations standards associées sont fournies à l'annexe B.

Une autre possibilité consisterait à utiliser un arbre de

classification en déterminant préalablement les seuils décisionnels des paramètres de textures aux noeuds de l'arbre[87]. Ces seuils pourraient être établis en s'inspirant des valeurs moyennes et des déviations standards fournies à l'annexe B.

5.13) Développement d'une méthode automatique

Tout d'abord, rappelons que la caractérisation et la classification des textures sont des étapes *sine qua non* pour envisager la segmentation automatique. Ayant réussi lors de ce projet à accomplir les deux premières étapes, nous traitons brièvement dans cette section d'une approche permettant la segmentation automatique. Cependant, comme le mentionne Rosenfeld[40], le problème consistant à partitionner l'image afin d'isoler les régions formées de textures différentes s'avère beaucoup plus complexe que la classification de textures inconnues. C'est pour cette raison, entre autres, que nous avons voulu optimiser au maximum les performances des attributs de textures.

5.13.1) Approche suggérée

Les vecteurs formés des attributs de textures retenus pourraient être utilisés à l'intérieur d'une stratégie d'analyse incluant, par exemple, une méthode de division et fusionnement[79,88] (split and merge) basée sur une représentation de l'image par arbre quaternaire[89,90] (quadtree). Cette approche, utilisée par Chen

et Pavlidis[79], Conners et al.[85] ainsi que par Neveu et al.[91], constituerait à notre connaissance un outil parmi les plus puissants pour accomplir la tâche de segmentation que notre système visuel performe avec une telle simpicité.

Les points à considérer avec cette approche sont les suivants:

- le choix de la taille de la fenêtre d'analyse;
- la classification des régions en utilisant une classe "poubelle";
- la détermination des critères de l'algorithme "split and merge".

D'une part, la fenêtre d'analyse ne doit être ni trop petite pour assurer la validité des statistiques mesurées, ni trop grande pour permettre une bonne discrimination des frontières[74,83,92]. A ce sujet, mentionnons les travaux de Khotanzad et Chen[93] qui proposent une méthode de sélection automatique de la grandeur de la fenêtre.

D'autre part, le classificateur doit pouvoir tenir compte d'une classe "poubelle" ou non spécifiée. En effet, puisque les images ne sont pas uniquement formées de trois types de structures biologiques, on doit élaborer une stratégie pour rejeter les autres composants, tels que le cytoplasme, l'espace intercellulaire, etc. En utilisant le classificateur basé sur les mesures de distance, on peut déterminer un seuil décisionnel, i.e. une valeur maximale de distance à partir de laquelle ces textures sont associées à la classe "poubelle"[83].

Finalement, il faut déterminer les critères permettant de regrouper ou de fusionner les régions à l'intérieur de l'algorithme. Les critères utilisés par Neveu et al.[91], lors de travaux en segmentation d'images échographiques, semblent pertinents, à savoir: 1) regrouper quatre régions issues du même père si elles appartiennent à la même classe, 2) diviser une région si ses quatre fils sont de classes différentes, et 3) regrouper les régions adjacentes de même classe.

Puisqu'il dépasserait le cadre de cette discussion de présenter les autres approches disponibles, le lecteur peut se référer à la revue de Gool[74] ainsi qu'à celle d'Haralick et Shapiro[92].

5.14) Considérations générales

Peu importe si l'on considère l'optique d'une semi-automatisation ou d'une automatisation complète de la méthode, les points suivants permettraient d'améliorer les performances globales du système, soit:

- relier la caméra directement à l'objectif du microscope afin d'obtenir des images de qualité supérieure;
- optimiser l'algorithme des matrices de co-occurrences à l'aide des modifications proposées par plusieurs auteurs[81,94,95,96];
- intégrer d'autres types d'organites cellulaires, tels que le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, le lysosome, etc.

Finalement, mentionnons que pour appliquer la méthode proposée dans ce mémoire à d'autre séries d'images, il suffirait de reconstituer la population d'entraînement. Les résultats obtenus permettent de suggérer un population de trente organites par classe comme étant un nombre suffisant et représentatif d'échantillons.

5.15) Conclusion

En guise de conclusion, rapportons qu'en 1978, Parrish et al.[9] tentait de segmenter d'une façon automatique quatre types d'organites cellulaires contenus sur des micrographies du foie. Celui-ci, qui utilisait l'approche standard de segmentation par détection de contours, dut se résigner à utiliser une approche interactive en raison de la complexité des images traitées. Il est intéressant de citer ses propos: "Experience indicates that image processing is not yet powerful enough to locate and define all the cell components automatically...". A la lumière des résultats obtenus dans ce mémoire, nous sommes confiants que l'analyse de textures permettra d'apporter une contribution notable à ce problème.

CHAPITRE 6

CONCLUSION

Dans ce mémoire, quatre méthodes d'analyse de textures ont été évaluées pour caractériser et classifier trois types d'organites cellulaires contenus sur des images radioautographiques. Ces méthodes, citées par ordre décroissant de performances, sont les suivantes:

- méthode des matrices de co-occurrences (2° ordre);
- méthode des matrices de longueurs de sections (1° ordre);
- mesures sur l'histogramme des différences de paires de pixels (1° ordre);
- mesures sur l'histogramme (1° ordre).

En plus de démontrer que la méthode des matrices de co-occurrences était la meilleure, nous avons analysé l'influence de certains paramètres (**N**, **d**, **θ**) dans le but de l'optimiser. Les valeurs optimales de ces paramètres ont été identifiées comme étant:

- nombre de classes de niveaux de gris (**N**) : 32,
- distance d'analyse (**d**) : 1,
- orientation d'analyse (**θ**) : Σ (moyennage).

De plus, l'effet des techniques de réduction d'images et d'égalisation d'histogrammes a été évalué. Nous avons constaté, d'une part, que la technique de réduction par filtrage moyen optimisait les performances de la méthode. Nous avons conclu, d'autre part, qu'il était préférable d'utiliser le processus de normalisation qui consiste à obtenir un niveau moyen de l'image constant plutôt que d'appliquer la technique d'égalisation d'histogrammes. Ce résultat permet de mettre en garde les chercheurs en vision par ordinateur face à l'utilisation de la technique d'égalisation uniforme d'histogrammes qui est généralement utilisée d'une façon systématique lors des travaux en analyse de textures.

La démarche finale proposée a finalement été appliquée à une population de 734 échantillons, fournissant un pourcentage de bonnes classifications de 95%. Le classificateur utilisé était la méthode des **k** plus proches voisins (distance de Mahalanobis) en se servant de 90 échantillons comme population d'entraînement.

Ce résultat a donc permis de proposer le développement d'une méthode semi-automatique d'images radioautographiques et d'envisager une automatisation complète de la méthode.

BIBLIOGRAPHIE

1. GENEST, J., KUCHEL, O., HAMET, P. et CANTIN, M.: Hypertension. McGraw Hill, New-York, 1983, 1318 pages.

2. VANDER, A.J., SHERMAN, J.H. et LUCIANO, D.S. Physiologie humaine. McGraw-Hill, Montréal, 1977, 608 pages.

3. MESSIER, P-E. Introduction à l'ultrastructure cellulaire. Les Presses de l'Université de Montréal, Montréal, 1974, 62 pages.

4. WEIBEL, E.R., KISTLER, G.S., SCHERLE, W.: Practical stereological methods for morphometric cytology. J. cell biol., vol. 30, pp. 23-38, 1966.

5. WEIBEL, E.R. "Stereological methods" in Practical methods for biological morphometry, vol. 1. Academic Press, London, 1979. 415 pages.

6. WILLIAMS, M.A.: "The assessment of electron microscopic autoradiographs" in Advances in optical and electron microscopy, vol. 3. R. Barer et V.E. Cosslet, eds. Academic Press, New York, pp. 219-272, 1969.

7. WILLIAMS, M.A.: "Quantitative methods in biology" in Practical methods in electron microscopy, vol. 6. A.M. Glauert, ed. North Holland Publishing Co., Amsterdam, pp. 85-169, 1977.

8. SALPETER, M.M., McHENRY, F.A. et SALPETER E.E.: Resolution in electron microscope autoradiography. J. cell biol., vol. 76, pp. 127-145, 1978.

9. PARRISH, E.A., AYLOR, J.H. et GRITTON, C.W.K.: Pictorial pattern recognition applied to morphometric cytology. Proc. 2nd ann. symp. comput. appl. med. care, november 5-9, 1978, Washington D.C., pp. 26-30.

10. GARBAY, C.: Image structure representation and processing: A discussion of some segmentation methods in cytology. IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., vol. PAMI-8, no. 2, pp. 140-146, march 1986.

11. RANADE, S. and PREWITT, J.M.S.: A comparison of some segmentation algorithms for cytology. Fifth international conference on pattern recognition, Miami Beach, Florida, December 1-4, 1980, pp. 561-564.

12. PRESTON, K. and BARTELS, P.H.: "Automated image processing for cell and tissue" in Progress in Medical Imaging. Vernon L. Newhouse editor, Springer-Verlag, New-York, pp.1-121, 1988.

13. PRESTON, K.: High-resolution image analysis. J. histochem. cytochem., vol. 34, no. 1, pp. 67-74, 1986.

14. PRESTON, K.: Tissue section analysis: Feature selection and image processing. Pattern recognition, vol. 13, pp. 17-36, 1981.

15. PRESTON, K.: Automation of the analysis of cell images. Anal. quant. cytol., vol. 2, no. 1, march-april 1980.

16. PRESTON, K.: "Digital picture analysis in cytology" in Digital picture analysis. A. Rosenfeld editor, Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 209-294, 1976.

17. MIZE, R.: Computer applications in cell and neurobiology: A review. Int. rev. cytol., vol. 90, pp. 83-124, 1984.

18. BRADBURY, S.: Commercial image analyzers and the characterization of microscopical images. J. microsc., vol. 131, no. 2, pp. 203-210, august 1983.

19. BRADBURY, S.: Microscopical image analysis: Problems and approaches. J. microsc., vol. 115, no. 2, pp. 137-150, march 1979.

20. MAYALL, B. and GLEDHILL B.L. (editors): Sixth engineering foundation conference on automatic cytology. J. histochem. cytochem., vol. 27, pp. 1-641, 1979.

21. MAYALL, B. and GLEDHILL B.L. (editors): Fifth engineering foundation conference on automatic cytology. J. histochem. cytochem., vol. 25, pp. 479-952, 1977.

22. MAYALL, B. (editor): Fourth engineering foundation conference on automatic cytology. J. histochem. cytochem., vol. 24, pp. 1-411, 1976.

23. MAYALL, B. (editor): Third engineering foundation conference on automatic cytology. J. histochem. cytochem., vol. 22, pp. 451-756, 1974.

24. EVANS, D.M.D. (editor): Cytology automation. Livingston, Edinburgh and London, 1970.

25. WIED, G.L. and BAHR, B. (editors): Automated cell identification and cell sorting. Academic Press, New-York, 1970.

26. KOSS, L.G. and COLEMAN, D.V. (editors): Diagnostic cytology and its pathological bases. Lippincott, Philadelphia, 1979.

27. PRESTON, K. and ONOE, M.: Digital processing of biomedical images. Plenum Press, New-York, 1976.

28. CHERMANT, JL. (editor): "Quantitative analysis of microstructures" in Materials science, biology, and medicine. Riederer, Stuttgart, 1978.

29. PRESSMAN, N.J. and WIED, G.L. (editors): Tutorials of cytology. Chicago, 1979.

30. ONOE, M., PRESTON, K. and ROSENFELD, A. (editors): Real-time medical image processing, Plenum Press, New-York, 1980.

31. BAAK, J.P.A. and OORT, J.: Morphometry in diagnostic pathology, Springer-Verlag, Berlin, 1983.

32. BIANCHI,C. La liaison et l'internalisation de l'angiotensine II dans le cortex surrénalien du rat. Mémoire de maîtrise, Université de Montréal, avril 1984, 128 pages.

33. WITTEKIND, D.: Standardization of dyes and stains for automated cell pattern recognition. Anal. quant. cytol. histol., vol. 7, pp. 6-30, march 1985.

34. ROSENFELD, A: "SURVEY - Picture processing: 1988". Comput. graphics image process., vol. 46, pp. 196-264, 1989.

35. GONZALEZ, R.C. and WINTZ, P.: Digital image processing. Addison Wesley Publ. Co., 1977, 431 pages.

36. COSTER, M. et CHERMANT, J-L.: Précis d'analyse d'images. Editions du CNRS, Paris, 1985, 521 pages.

37. BOVIK, A.C., HUANG, T.S. and MUNSON, D.C.: The effect of median filtering on edge estimation and detection. IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., vol. PAMI-9, no. 2, pp. 181-194, march 1987.

38. NODES, T.A. and GALLAGHER, N.C.: Median filters: Some modifications and their properties. IEEE Trans. acoust., speech, signal process., vol. ASSP-30, no. 25, pp. 739-746, october 1982.

39. GALLAGHER, N.C. and WISE, G.L.: A theoretical analysis of the properties of median filters. IEEE Trans. acoust., speech, signal process., vol. ASSP-29, no. 6, pp. 1136-1141, december 1981.

40. ROSENFELD, A. and KAK, A.C.: Digital picture processing. Academic Press, New York, 1976, 457 pages.

41. HALL, E.L., KRUGER, R.P., DWYER, S.J., HALL, D.L., McLAUREN, R.W. and LODWICK, G.S.: A survey of preprocessing and feature extraction techniques for radiographic images. IEEE Trans. comput., vol. C-20, no. 9, pp. 1032-1044, september 1971.

42. FREI, W.: Image enhancement by histogram hyperbolization. Comput. graphics image process., vol. 6, pp. 286-294, 1977.

43. LESZCZYNSKI, K.W. et SHALEV, S.: Digital contrast enhancement for online portal imaging. Med. biol. eng. comput., vol. 27, pp. 507-512, september 1989.

44. CHEN, C.J. and SHI, Q.Y.: Shape features for cancer cell recognition. Proc. 5th int. conf. on pattern recognition. Miami Beach, Florida, December 1-4, 1980, pp. 579-581.

45. HOLMQUIST, J., BERGSTSSON, E., ERIKSON, O., NORDIN, B. and STENKVIST, B.: Computer analysis of cervical cells: automatic features extraction and classification. J. histochem. cytochem., vol. 26, pp. 1000-1017, 1978.

46. TRUNK, G.V.: A problem of dimensionality: A simple example. IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., vol. PAMI-1, no. 3, pp. 306-307, july 1979.

47. KALAYEH, M.M. and LANDGREBE, D.A.: Predicting the required number of training samples. IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., vol. PAMI-5, no. 6, pp. 644-667, november 1983.

48. JAIN, A.K. et CHANDRASEKARAN, B.: "Dimensionality and sample size considerations in pattern recognition practice" in Handbook of statistics, vol. 2. P.R. Krishnaiah et L.N. Kanal eds., North-Holland Publishing company, Amsterdam, pp. 835-855, 1982.

49. FRANTSUZ, A.G.: Influence of correlations between attributes on their informativeness for pattern recognition. Eng. cybernet., vol. 4, pp. 64-68, 1967.

50. COCHRAN, W.G.: On the performance of the linear discriminant function. Bull. inst. statist. math., vol. 39, pp. 435-447, 1962.

51. COVER, T.M. and VAN CAMPENHOUT, J.M.: On the possible ordering in the Measurement Selection Problem. IEEE Trans. syst., man, cybernet., vol. SMC-7, pp. 657-661, september 1977.

52. TOU, J.T. and GONZALEZ, R.C.: Pattern recognition principles. Addison-Wesley Publ. Co., 1974, 377 pages.

53. COVER, T.M. and HART, D.: Nearest neighbor pattern classification. IEEE Trans. inform. theory, vol. IT-13, no.1, pp. 21-27, january 1967.

54. FUKUNAGA, K. and HUMMELS, D.M.: Bias of nearest neighbor error estimates. IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., vol. PAMI-9, no. 1, pp. 103-112, january 1987.

55. BAILEY, T. and JAIN, A.K.: A note on distance weighted K-nearest neighbor rules. IEEE Trans. syst., man, cybernet., vol. 8, pp. 311-313, april 1978.

56. TOUSSAINT, G.: Bibliography on estimation of misclassification. IEEE Trans. inform. theory, vol. IT-20, no. 4, july 1974.

57. FUKUNAGA, K. and HAYES, R.R.: Estimation of classifier performance. IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., vol. PAMI-11, no. 10, october 1989.

58. HAND, D.J.: Recent advances in error rate estimation. Pattern recognition lett., vol. 4, no. 5, pp. 335-346, october 1986.

59. JAIN, A.K.: "Advances in statistical pattern recognition" in Pattern recognition theory and applications. Devijver, P.A. and Kittler, J. editors, Springer-Verlag, Berlin, pp. 1-19, 1987.

60. HARALICK, R.M.: Statistical and structural approaches to texture. Proc. IEEE, vol. 67, no. 5, pp. 786-804, 1979.

61. LOWITZ, G.E.: Can a local histogram really map texture information? Pattern recognition, vol. 16, no. 2, pp. 141-147, 1983.

62. PRATT, W.T.: Digital image processing. John Wiley & sons, inc., New-York, 1978, 750 pages.

63. WESZKA, J.S., DYER, C.R. and ROSENFELD, A.: A comparative study of texture measures for terrain classification. IEEE Trans. syst., man, cybernet., vol. SMC-6, no. 4, pp. 269-285, april 1976.

64. ZUCKER, S.W. and TERZOPOULOS, D.: Finding structure in co-occurrence matrices for texture analysis. Comput. graphics image process., vol. 12, pp. 286-308, 1980.

65. PRESSMAN, N.J.: Markovian analysis of cervical cell images. J. histochem. cytochem., vol. 24, pp. 138-144, 1976.

66. CONNERS, R.W. and HARLOW, C.A.: A theoretical comparison of texture algorithms. IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., vol. PAMI-2, no. 3, pp. 204-222, may 1980.

67. SIEW, L.H., HODGSON, R.M. and WOOD, E.J.: Texture measures for carpet wear assessment. IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., vol. PAMI-10, no. 1, pp. 92-105, january 1988.

68. GALLOWAY, M.M.: Texture classification using gray level run lengths. Comput. graphics image process., vol. 4, no. 2, pp. 172-179, june 1975.

69. JULESZ, B.: Visual pattern discrimination. IRE Trans. inform. theory, vol. IT-8, no. 2, pp. 84-92, 1962.

70. PRATT, W.K., FAUGERAS, O.D. and GAGALOWICZ, A.: Visual discrimination of stochastic texture fields. IEEE Trans. syst., man, cybernet., vol. SMC-8, no. 11, pp. 796-803, november 1978.

71. HARALICK, J.R., SHANNUGAM, K. and DINSTEIN, I.: Textural features for image classification. IEEE Trans. syst., man, cybernet., vol. 3, no. 6, pp. 610-621, november 1973.

72. ROSENFELD, A. and TROY, E.B.: Visual texture analysis. Conference record for symposium on feature extraction and selection in pattern recognition, IEEE Publication 70C-51C, Argonne, pp.115-124, October 1980.

73. LEVINE, M.D.: Vision in man and machine. McGraw-Hill, Montréal, 1985, 574 pages.

74. GOOL, L. Van, DEWAELE, P. and OOSTERLINCK, A.: SURVEY - Texture analysis anno 1983. Comput. vision graphics image process., vol. 29, pp. 336-357, 1985.

75. SAKAUE, K. and TAGAKI, M.: Separation of overlapping particles by iterative methods. Fifth international conference on pattern recognition, Miami Beach, Florida, December 1-4, 1980, pp. 522-525.

76. HARMS, H., AUS, H.M., HAUCKE, M. and GUNZER, U.: Segmentation of stained blood cell images measured at high scanning density with high magnification and high numerical aperture optics. Cytometry, vol. 7, pp. 522-531, 1986.

77. FOLEY, J.D. and VAN DAM, A.: Fundamentals of interactive computer graphics. Addison-Wesley Publishing Co., Massachusset, U.S.A., 1984.

78. LIEBLING, T. and ROTHLISBERGER, H.: Infographie et applications. Manuels informatiques Masson, Paris, 1988, 486 pages.

79. CHEN, P.C. and PAVLIDIS, T.: Segmentation by texture using a co-occurence matrix and a split-and-merge algorithm. Comput. graphics image process., vol. 10, pp.172-182, 1979.

80. CONNERS, K.W. and HARLOW, C.A.: Equal probability quantizing and texture analysis of radiographic images. Comput. graphics image process., vol. 8, no. 3, pp. 447-463, december 1978.

81. SUN, C. and WEE, W.G.: Neighboring gray level dependence matrix for texture classification. Comput. vision image process., vol. 23, pp. 341-352, 1983.

82. DAVIS, L.S., CLEARMAN, M. and AGGARWAL, J.K.: An empirical evaluation of generalized co-occurrence matrices, IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., vol. PAMI-1, no. 3, pp. 251-259, 1979.

83. LEJEUNE, J.C., BONN, F., ROUX, C. et ODOUX, B.: Apport de l'information de texture à la segmentation des images du satellite SPOT en milieu urbain. IEEE Montech'87, Montréal, 9-11 novembre 1987, pp. 173-176.

84. NGUYEN, N.G., POULSEN, R.S. and LOUIS, C.: Some New Color Features and Their Application to Cervical Cell Recognition. Pattern Recognition, vol. 16, pp. 401-411, 1983.

85. CONNERS, R.W., TRIVEDI, M.M. and HARLOW, C.A.: Segmentation of a high-resolution urban scene using texture operators. Comput. vision graphics image process., vol. 25, pp. 273-310, 1984.

86. REEP, R.L. and CREEGAN, W.J.: An Accurate Method for Automated Counting of Silver Grains in Autoradiographs. Comput. biomed. res., vol. 21, pp. 244-267, 1988.

87. BREIMAN, L., FRIEDMAN, J.H., OLSHEN, R.A. and STONE, C.J.: Classification and regression trees. Wadsworth International group, Belmont, California, 1984, 358 pages.

88. HOROWITZ, S.L. and PAVLIDIS, T.: Picture segmentation by a tree traversal algorithm. J. assoc. comput. machin., Vol. 23, no. 2, pp. 368-388, april 1976.

89. CHAUDHURI, B.B.: Applications of quadtree, octree, and binary tree decomposition techniques to shape analysis and pattern recognition. IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., vol. PAMI-7, no. 6, pp. 652-661, november 1985.

90. SPANN, M. and WILSON, R.: A quadtree approach to image segmentation which combines statistical and spatial information. Pattern recognition, vol. 18, nos. 3/4, pp. 257-269, 1985.

91. NEVEU, M., DIPANDA, A., PLANTAMP, D. et DIEBOLD, H.: Segmentation d'images échocardiographiques par analyse de texture. Innov. tech. biol. méd., vol. 10, no. 4, pp. 413-428, 1989.

92. HARALICK, R.M. and SHAPIRO, L.G.: SURVEY on image segmentation techniques. Comput. vision graphics image process., vol. 29, pp. 100-132, 1985.

93. KHOTANZAD, A. and CHEN, J.Y.: Unsupervised segmentation of textured images by edge detection in multidimensional features. IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., vol. PAMI-11, no. 4, pp. 414-421, april 1989.

94. DAVIS, L.S., JOHNS, S.A. and AGGARWAL, J.K.: Texture analysis using generalized co-occurrence matrices. IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., PAMI-1, no. 3, pp. 251-259, july 1979.

95. DYER, C.R., HONG, T.H. and ROSENFELD, A.: Texture classification using gray level cooccurrence based on edge maxima. IEEE Trans. syst., man, cybernet., vol. SMC-10, no. 3, pp. 158-163, march 1980.

96. UNSER, M.: Sum and difference histograms for texture classification. IEEE Trans. pattern anal. mach. intell., vol. PAMI-8, no. 1, pp. 118-125, january 1986.

ANNEXE A

PREPARATION DES SPECIMENS

La méthodologie utilisée pour la préparation des spécimens de notre projet, telle que décrite par Bianchi[32], comporte neuf étapes soit:

1) la préparation des lames;
2) l'inclusion des coupes dans l'araldite;
3) la coloration des coupes;
4) la vaporisation d'une couche de charbon;
5) le coulage de l'émulsion;
6) l'exposition (2 mois);
7) le développement;
8) la fixation;
9) la séparation du film "Parlodion".

La préparation des coupes est soumise à plusieurs sources de variabilité, telles que la non-uniformité dans l'épaisseur des coupes, le manque de standardisation des techniques de déshydratation et de fixation. De plus, l'introduction d'artefacts est à redouter lors de la coupe du tissu (déchirures) et lors des nombreuses manipulations subséquentes (poussières, résidus). Pour éviter ceux-ci, les coupes sont lavées et l'on doit surveiller étroitement certains paramètres, tels que la température, l'humidité, l'étanchéité des boîtes contenant les coupes, etc.

La principale source de variations provient généralement des techniques de coloration des spécimens. Le manque de standardisation, lors de l'étape de la coloration, peut générer des images de teintes

différentes et/ou des variations de contraste entre les différents composants d'une même image.

Les étapes du processus spécifiques à la technique de marquage radioautographique (le coulage de l'émulsion, l'exposition, le développement, la fixation) sont aussi à considérer car elles influencent les caractéristiques des grains d'argent à observer.

Nous pouvons constater que la préparation des spécimens comporte des manipulations délicates qui sont régies par plusieurs paramètres dont les principaux sont: la concentration des solutions, le temps de traitement, la température, l'humidité, l'angle de séchage des lames, le type d'émulsion, de solutions et de film, etc. La standardisation de ce processus[33] est donc primordiale afin d'assurer la réussite de l'expérience et, en ce qui nous concerne, des images contenant le moins de variations visuelles et d'artefacts possible.

Dans le cas précis de notre application, les images analysées ne proviennent pas directement d'une caméra couplée au microscope mais d'un négatif. Une fois de plus, une bonne standardisation du procédé photographique doit être envisagée pour éviter les variations de contraste d'un cliché à l'autre.

ANNEXE B

STATISTIQUES DES ATTRIBUTS EXTRAITS DE LA POPULATION 1

	NOYAUX		MITOCHONDRIES		GOUTTELLETTES DE LIPIDES	
	μ	σ	μ	σ	μ	σ
MC1	0.014	0.004	0.041	0.012	0.041	0.020
MC2	4.06	1.03	2.80	0.92	2.29	1.00
MC3	0.88	0.022	0.54	0.100	0.88	0.078
MC4	4.06	1.03	2.80	0.92	2.29	1.00
MC5	0.47	0.034	0.52	0.044	0.63	0.047
MC6	4.71	0.26	3.61	0.34	3.82	0.42
MC7	1.50	0.19	1.23	0.20	0.94	0.19
MC8	1.79	0.46	1.24	0.40	1.36	0.67
MC9	1.55	0.11	1.40	0.12	1.25	0.14
MC10	30.99	2.49	36.04	3.87	35.33	6.93
MC11	68.83	21.78	10.54	6.79	45.92	29.38
MC12	3.36	0.16	2.46	0.21	2.99	0.32
MC13	11.92	2.11	6.18	1.84	7.34	2.19
MC14	0.75	0.09	0.62	0.10	0.47	0.09

Méthode d'analyse : co-occurrences ($d=1$, $\theta=\Sigma$, $N=32$),
Technique de réduction : filtrage moyen,
Technique d'égalisation : aucune.

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL
3 9334 00290767 1