

Titre du Projet

Réalisation d'un automate d'acquisition d'images histologiques pour la cancérologie clinique

Partenariat principal

Centre Régional de Lutte contre le Cancer François Baclesse (Caen)

Paulette HERLIN, tel : 02 31 45 51 37, fax : 02 31 45 50 18

Courriel : p.herlin@baclesse.fr

GREYC, UPRES-A CNRS 6072, Université et ISMRA (Caen)

Daniel BLOYET, tel : 02 31 45 27 04, fax : 02 31 45 26 98

Courriel : d.bloyet@greyc.ismra.fr

Autres partenaires :

Département de Mesures Physiques, IUT de Caen

Benoît Plancoulaine, tel : 02 31 56 70 52

Courriel : b_plancoulaine@iutcaen.unicaen.fr

Résumé

L'analyse de coupes de tissus humains prélevés dans des zones cancéreuses nécessite un examen à différentes échelles. Une échelle macroscopique et centimétrique, permet de délimiter la tumeur et d'en déterminer l'aspect général (inhomogénéités de couleur, de texture...). Une échelle microscopique à faible résolution permet d'observer les perturbations de l'architecture tissulaire, une étude microscopique haute résolution permet d'accéder à la morphologie cellulaire, voire intracellulaire. Il est donc très important de pouvoir diriger l'analyse microscopique fine sur des zones particulières déterminées par leur aspect à l'échelle centimétrique et leur topographie à faible grossissement.

Le travail réalisé consiste donc à piloter un microscope (table X, Y de déplacement de l'échantillon) de façon à reconstituer, à la définition microscopique nécessaire à l'analyse fine, une zone de la tumeur (Région d'Intérêt) préalablement délimitée par le médecin anatomo-pathologiste sur l'image de l'ensemble de la lésion, observée à l'échelle centimétrique.

Les moyens matériels mis en œuvre sont les suivants :

- un scanner à diapositives pour digitaliser, avec une résolution spatiale d'environ 10 μ m, la totalité de la coupe de tissu,
- un microscope muni d'une table de déplacement X, Y pilotable par ordinateur,
- une caméra couleur, pour réaliser les clichés microscopiques,
- un micro-ordinateur muni de cartes d'acquisition d'image et de pilotage de la table X, Y.

Le logiciel réalisé est capable de reconstituer à l'échelle microscopique l'ensemble de la "Région d'Intérêt" tracée par le pathologiste sur l'image de la même coupe de tissu, vue au travers du scanner à diapositives.

Cette région d'intérêt, de résolution microscopique, peut ensuite être analysée par des logiciels de traitement numérique d'images (qui ont par exemple été développés par les laboratoires partenaires de ce programme), pour en retirer automatiquement des informations quantitatives sur les caractéristiques comparées des tissus normaux et pathologiques.

Mots clés :

Imagerie médicale, Histologie, Analyse d'Images, Microscopie automatique, Cancer

Description détaillée du projet

La recherche des indices cytologiques d'évaluation du devenir des lésions cancéreuses et de leur réponse au traitement est effectuée par le médecin anatomo-pathologiste, sur des territoires de coupes fines de tissu choisis par l'expert, après application de colorations spécifiques, pour recueillir, soit visuellement soit par l'intermédiaire d'appareils automatisés, des informations quantitatives au niveau cellulaire. Les problèmes rencontrés par les analyses actuelles tiennent à la subjectivité du choix et de la méthode d'étude des territoires à analyser et à l'hétérogénéité des tissus tumoraux. La réponse à ces deux problèmes est de s'aider autant que possible d'outils automatisés, permettant d'analyser l'ensemble de la tumeur et susceptibles de fournir des résultats invariables au praticien. Les partenaires de ce programme ont développé depuis 15 ans un ensemble d'outils automatiques d'analyse d'images capables de donner des informations précises sur les tissus sains ou pathologiques, en fonction de leur localisation. L'objet de cette étude vient en amont des traitements d'images existants, puisqu'il s'agit de construire une macroimage à haute résolution spatiale ($< \mu\text{m}$) réalisée par adjonction de champs, jointifs ou non, dont les caractéristiques géométriques couvrent une Région d'intérêt tracée par un pathologiste sur une image de basse résolution ($> 10 \mu\text{m}$), obtenue par un scanner à diapositives.

Le logiciel a été développé en langage Visual C++ 5.0 en utilisant la bibliothèque Microsoft Foundation Class. Des opérateurs de la bibliothèque de traitement d'images Aphelion (ADCIS) ont été abondamment utilisés. L'application principale est au cœur d'une structure composée de 5 éléments ActiveX (Xscan, Xcam, Xscope, Ximage, Xplatine) dont l'intérêt tient en leur réutilisabilité, leur petitesse et leur rapidité.

Outre des fonctions de communication à assurer entre l'ordinateur central et les différents appareils (scanner, platine, microscope) impliqués dans le système, les problèmes techniques majeurs ont été les suivants :

- mise en correspondance des coordonnées du système d'acquisition microscopique avec celles du système d'acquisition par scanner,
- mise au point et maintien d'une focalisation optimale du microscope sur l'ensemble de la surface à saisir,
- alignement des champs acquis par caméra pour constituer une macroimage sans discontinuités interchamps.

La fabrication de lames microscopiques, munies de repères géométriques, dédiées à cette application s'étant révélée trop onéreuse, le recalage des deux systèmes de coordonnées a été effectué par détection automatique des bords de la lame porte échantillon sur chacun des deux systèmes d'acquisition.

Le maintien du focus de la caméra a rendu obligatoire la mise au point d'un logiciel d'autofocus adapté au contenu des images. Le maintien automatique de la focalisation repose sur la maximisation de la variance de l'image calculée sur une petite partie de chaque champ. L'algorithme de Fibonacci est utilisé pour accélérer la convergence.

L'alignement des champs (le parallélisme des 2 systèmes d'axes est très facile à obtenir) est obtenu via une zone de recouvrement sur laquelle est calculée une inter corrélation.

Le logiciel est actuellement fonctionnel. Il est notamment utilisé pour des études fines sur la vascularisation des tumeurs cancéreuses, la prolifération des cellules tumorales et le développement du stroma des cancers.

Bibliographie

Thuillier J., Plancoulaine B., Lezoray O., Herlin P., Bloyet D. Building of a microscopical image acquisition device dedicated to clinical oncology. **Analytical Cellular Pathology**, 22 (1, 2), 2001, résumés du 7^{ème} congrès de l'European Society for Analytical Cellular Pathology, Caen, 1 – 5 avril 2001.