

**Institut Supérieur de l'Électronique et du Numérique**

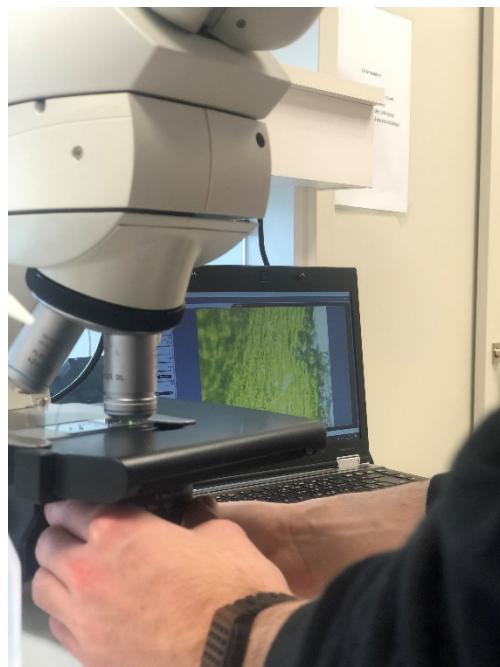
Tél. : +33 (0)2.98.03.84.00

Fax : +33 (0)2.98.03.84.10

20, rue Cuirassé Bretagne

CS 42807 - 29228 BREST Cedex 2 - FRANCE

### **Analyse automatisée de coupes fines d'échantillons d'objets (algues, végétaux et autres) pour la quantification des paramètres physico-chimiques**



Proposé par : EL BOUZ Marwa

Thématique : Imagerie, Informatique

POULIQUEN Nathan, Marine Technologies  
LUCAS Emma, Technologies Biomédicales

## REMERCIEMENTS

Avant de commencer à exposer le travail réalisé et les résultats obtenus au cours de ces semaines, nous tenons à remercier toutes les personnes qui nous ont permises d'avancer et de trouver les solutions vers la réussite de ce projet.

Nous adressons toute notre gratitude à Mme El Bouz, enseignante chercheuse à l'ISEN de Brest, pour sa confiance et son engagement afin de rendre possible la création d'un projet supplémentaire dans le domaine de l'imagerie. Nous soulignons également son implication, sa disponibilité et son intérêt pour les résultats obtenus tout au long du projet.

Nos remerciements s'adressent également à Mme Chaillou, technicienne de laboratoire au sein de l'ISEN, pour son aide lors des séances d'acquisition ainsi que pour ses conseils.

Nous remercions enfin Mme Pigney, enseignante en botanique à l'ISEN de Brest, pour les outils de documentation fournis et pour sa réactivité les réponses à nos demandes.

Le projet que nous avons réalisé est bien le fruit de notre travail et de nos efforts, mais c'est bien grâce à cette équipe que les bonnes décisions ont été prises pour progresser dans la bonne direction.

## RÉSUMÉ

Dans le cadre du projet de quatrième année, il a été confié aux étudiants de l'ISEN Brest un projet alliant leur cursus de BOST et leurs compétences informatiques basées sur le traitement d'images. Il est courant que l'analyse d'images microscopiques à l'œil nu ne soit pas assez précise pour obtenir des résultats fiables. C'est pourquoi il a été demandé d'automatiser la tâche d'analyse de coupes fines d'échantillons d'objets (algues, végétaux et autres) pour la quantification de leurs paramètres physico-chimiques. Le projet s'est étalé sur 7 semaines et a été supervisé par Mme El Bouz, enseignante-chercheuse à l'ISEN Brest.

Le projet s'est déroulé en étapes bien définies :

Dans un premier temps, il a été question d'établir un état de l'art de ce qu'il serait intéressant d'automatiser, sur quels végétaux et avec quelles techniques. Très vite, les recherches se sont portées sur les différents types d'algues qui existent et leurs différentes caractéristiques. Une fois cette étape validée par l'encadrant, les recherches sur le traitement d'images en langage Python ont pu débuter. Pour commencer, l'acquisition de coupes microscopiques réalisées en laboratoire spécialisé a permis d'avoir des images nettes et une base de données complète pour avoir des sujets d'analyse précis. Dans un second temps, il a été décidé de réaliser, au sein des locaux de l'ISEN, des coupes d'algues et de les acquérir afin d'élargir la base de données et de se concentrer sur l'objectif initial à savoir : l'analyse et l'identification d'espèces d'algues différentes. Le traitement d'images s'est concentré sur la quantification et détection de forme et couleur.

En parallèle de ce travail et avec les conseils de notre enseignante référente, la prise en main du Framework open-source Streamlit a été nécessaire afin de créer une interface d'utilisation du programme pour l'utilisateur.

## SOMMAIRE

<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>2</b>
<b>RÉSUMÉ.....</b>	<b>3</b>
<b>GLOSSAIRE.....</b>	<b>5</b>
<b>TABLE DES FIGURES.....</b>	<b>6</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>7</b>
<b>1- CAHIER DES CHARGES .....</b>	<b>8</b>
1.1 Contexte et définition du problème .....	8
1.2 Besoin et contraintes du client .....	8
1.3 Livrables .....	9
<b>2- GESTION DE PROJET .....</b>	<b>10</b>
2.1 Les réunions .....	10
2.2 Outils de gestion .....	10
2.3 Répartition des tâches .....	12
<b>3- ÉTAT DE L'ART.....</b>	<b>13</b>
3.1 Documentation sur les objets d'études possibles .....	13
3.2 Documentation sur les méthodes d'analyses disponibles et possibles .....	15
<b>4- DÉVELOPPEMENT.....</b>	<b>17</b>
4.1 Réalisation de coupes d'algues et leurs acquisitions au microscope.....	17
4.1.1 Identification des éléments sur les coupes d'algues.....	17
4.1.2 Ramassage, coupes d'algues et acquisition .....	18
4.2 Traitement d'images.....	22
4.2.1 Techniques d'application de filtres .....	22
4.2.1.1 Filtre BGR to RGB.....	23
4.2.1.2 Filtre de niveaux de gris .....	24
4.2.1.3 Filtre Canny .....	25
4.2.1.4 Technique de Superposition.....	26
4.2.1.5 Technique de Concaténation .....	26
4.2.2 Détection des formes .....	27
4.2.2.1 Piste de développement et choix réalisés.....	27
4.2.2.2 Méthode .....	29
4.2.2.3 Réglage des seuils.....	29
4.2.2.3 Détection des couleurs .....	30
4.2.3.1 Couleurs prédominantes .....	30
4.2.3.2 Couleur spécifique.....	31
4.2.4 Découpage de l'image .....	32
4.2.4.1 Approches du problème .....	32
4.2.4.2 Choix réalisés.....	32
4.3 Réalisation d'une interface .....	33
4.3.1 Utilisation de Streamlit .....	33
4.3.2 Fonctionnalités.....	33
4.3.3 Choix de l'utilisateur .....	34
4.3.4 Ergonomie .....	34
4.4 Résultats obtenus .....	35
<b>5- CONCLUSION.....</b>	<b>39</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>40</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>41</b>

## GLOSSAIRE

*Automatisation* : L'automatisation correspond à l'utilisation de procédés techniques ou technologiques dans le but d'obtenir une exécution totale ou partielle de tâches complexes par des machines ou algorithmes fonctionnant sans intervention humaine.

*Machine Learning* : Le Machine Learning ou apprentissage automatique est un champ d'étude de l'intelligence artificielle qui se base sur des approches mathématiques et statistiques pour permettre aux ordinateurs de gagner en expérience à partir de la collecte de données.

*Framework* : Un framework ou infrastructure logicielle en français désigne un ensemble de composants logiciels qui sert à créer la base de la création d'un logiciel. Cet outil se distingue d'une simple bibliothèque logicielle par son caractère générique permettant d'accueillir plusieurs bibliothèques et pouvant accepter l'utilisation de plusieurs langages de programmation.

*Microscope optique* : Le microscope optique ou microscope photonique est un instrument d'optique constitué d'un objectif et d'un oculaire qui permettent de grossir l'image d'un objet de petites dimensions et de séparer les détails de cette image afin qu'il soit observable par l'œil humain. Il est utilisé notamment en biologie pour l'observation des cellules et des tissus.

*Coupe histologique* : Une coupe histologique est une tranche d'un objet suffisamment fine pour pouvoir être observée au microscope. Elles sont le plus souvent réalisées par un microtome (lame très précise) pour des coupes de quelques micromètres d'épaisseur.

*RGB* : Le mode colorimétrique RGB, en français RVB (Rouge, Vert, Bleu), est un système colorimétrique informatique permettant de représenter n'importe quelle couleur sous la forme d'une composante de ces trois couleurs primaires. Un mélange de ces trois paramètres permettra d'obtenir une très grande quantité de couleurs différentes.

*Méthode des K-means* : La méthode des K-means, en français K-moyennes, est une méthode de partitionnement de données. Étant donné un grand nombre de valeurs différentes et un entier k, l'objectif est de diviser les valeurs en k groupes appelés clusters. Cette méthode de clustering permet de diminuer le nombre de valeurs prises en considération et ainsi de faciliter le traitement des données.

*Pixel* : Le pixel est souvent abrégé par px. Il est l'unité de base permettant de mesurer la définition d'une image numérique matricielle. Dans une image numérique en couleur, chaque pixel va contenir l'information de sa couleur. Mis bout à bout à la façon d'un puzzle, ces microéléments vont constituer une image numérique.

## TABLE DES FIGURES

<i>Figure 1 : Capture de l'application Trello, pour la gestion de projet .....</i>	<b>11</b>
<i>Figure 2 : Capture de l'application Asana, pour la planification de projet .....</i>	<b>11</b>
<i>Figure 3 : Tableau rassemblant les caractéristiques exploitables des différents types d'algues .....</i>	<b>15</b>
<i>Figure 4 : Images des algues récoltées : algues brunes, algues rouges et algues vertes .....</i>	<b>18</b>
<i>Figure 5 : Tableau des valeurs obtenues à l'aide de la lame micrométrique .....</i>	<b>19</b>
<i>Figure 6 : Coupe d'algue rouge.....</i>	<b>20</b>
<i>Figure 7 : Coupe d'algue verte.....</i>	<b>20</b>
<i>Figure 8 : Coupe d'algue rouge.....</i>	<b>20</b>
<i>Figure 9 : Coupe d'algue brune.....</i>	<b>20</b>
<i>Figure 10 : Coupe tige de tilleul .....</i>	<b>21</b>
<i>Figure 11 : coupe feuille de maïs .....</i>	<b>21</b>
<i>Figure 12 : Coupe de dicotylédones et renoncules.....</i>	<b>21</b>
<i>Figure 13 : Image lue au format BGR .....</i>	<b>23</b>
<i>Figure 14 : Image lue au format RGB .....</i>	<b>23</b>
<i>Figure 15 : Image lue en niveaux de gris.....</i>	<b>24</b>
<i>Figure 16 : Image lue avec le filtre Canny .....</i>	<b>25</b>
<i>Figure 17 : Tableau exposant les avantages et les inconvénients de la Superposition .....</i>	<b>26</b>
<i>Figure 18 : Tableau exposant les avantages et les inconvénients de la Concaténation.....</i>	<b>27</b>
<i>Figure 19 : Tableau exposant les avantages et les inconvénients pour la détection de rectangles.....</i>	<b>28</b>
<i>Figure 20 : Tableau exposant les avantages et les inconvénients pour la détection de cercles.....</i>	<b>28</b>
<i>Figure 21 : Tableau exposant les différentes possibilités de détection des couleurs .....</i>	<b>32</b>
<i>Figure 22 : Tableau récapitulatif des outils pour l'utilisateur .....</i>	<b>34</b>
<i>Figure 23 : Image initiale, choisie pour présenter les résultats.....</i>	<b>35</b>
<i>Figure 24 : Image montrant la détection et la quantification des ronds .....</i>	<b>35</b>
<i>Figure 25 : Image montrant l'histogramme et le pourcentage des couleurs.....</i>	<b>36</b>
<i>Figure 26 : Image montrant l'isolement de la couleur bleue .....</i>	<b>37</b>
<i>Figure 27 : Image du rapport réalisé à partir de l'image obtenue .....</i>	<b>37</b>
<i>Figure 28 : Image d'une partie de l'image initiale sélectionnée grâce aux curseurs.....</i>	<b>38</b>

## INTRODUCTION

L'analyse de coupes observées au microscope est un travail difficile qui nécessite une expérience et une rigueur très importantes chez le technicien de laboratoire. De nos jours, il existe peu d'outils permettant de réaliser une expertise automatisée des échantillons récoltés pour aider les chercheurs à identifier les éléments d'intérêt. C'est dans ce contexte que le projet a vu le jour. L'objectif de ce travail est en effet d'améliorer l'efficacité d'observation d'images microscopiques grâce au développement d'algorithmes spécialisés dans le traitement d'images. Le développement des techniques de reconnaissance et les avancées dans le domaine de l'intelligence artificielle sont aujourd'hui une réelle chance pour permettre des avancées majeures dans le milieu des analyses microscopiques.

Un intérêt supplémentaire de ce projet est de démontrer la valeur des compétences acquises pendant le programme d'études au sein de l'ISEN Brest. Cette mission permettra en effet de valider les capacités d'analyse, de synthèse ainsi que les bases de programmation qui ont été enseignées pendant les 4 années de la formation d'ingénieur.

Ce compte-rendu présente les étapes effectuées, les résultats ainsi que les difficultés rencontrées au cours du développement de ce projet. Il confronte les résultats obtenus à ceux qui étaient envisagés d'après l'état de l'art. Des figures et schémas illustrent le document pour étayer les propos développés. Enfin, une notice d'utilisation de l'interface Streamlit est proposée pour accompagner l'utilisateur (cf. Annexe 6).

## 1- CAHIER DES CHARGES

### 1.1 Contexte et définition du problème

L'analyse automatisée de coupes fines d'échantillons d'objets pour la quantification des paramètres physico-chimiques est une problématique importante dans le domaine des observations microscopiques. En effet, actuellement, la majorité des analyses sont réalisées manuellement par un observateur humain.

Ceci pose plusieurs difficultés. Tout d'abord, un premier enjeu du développement d'un système d'automatisation est le temps. En effet, la durée nécessaire à la lecture et l'évaluation des caractéristiques de la coupe peut parfois être très chronophage et cela demande toute l'attention du technicien. De plus, la répétition des analyses peut rendre monotone ce travail et la concentration du manipulateur ne peut être la même pour toutes les acquisitions.

Un dernier point important est que l'analyse de l'échantillon est rendue très subjective en fonction de la sensibilité de l'évaluateur. Les différences de perception des formes et des couleurs entre les manipulateurs vont rendre le résultat de l'analyse très opérateur dépendant.

Ainsi, les objectifs de ce projet sont de supprimer le caractère subjectif de l'analyse en élaborant des seuils de détection identiques entre tous les échantillons. De plus, ce travail aura pour but de faciliter le travail du manipulateur en limitant le temps passé sur l'évaluation.

### 1.2 Besoin et contraintes du client

Pour répondre aux problématiques identifiées précédemment, il a été important de se rapprocher du client afin d'identifier ses besoins et les contraintes imposées.

Le client souhaite pouvoir obtenir une quantification des éléments physico-chimiques de lames microscopiques afin de faciliter voire de remplacer les observations à l'œil nu.

Pour cela, le client a demandé de réaliser un état de l'art orienté sur les éléments végétaux ou animaux observables au microscope optique avec un attrait particulier pour les végétaux. En effet, le client travaille sur des projets similaires en lien avec la formation de biofilm. Envisager la corroboration des résultats de ces travaux est un point important à prendre en compte.

Il a également été demandé de faire un état des connaissances techniques disponibles pour la partie programmation du projet, afin de savoir ce qu'il serait possible de mettre en place pour détecter et quantifier les éléments d'une image microscopique.

Le client a également bien spécifié que le livrable final est une interface fonctionnelle permettant d'analyser et de quantifier les informations présentes sur n'importe quelle image. Cette interface se devra d'être la plus ergonomique possible pour l'utilisateur.

Il a été également judicieux de se rapprocher de personnes qui ont l'habitude d'utiliser les analyses des coupes au microscope, afin de définir les besoins précis de l'utilisateur.

Quatre éléments importants sont ressortis de ces échanges :

- La taille, il est important de connaître la taille d'une cellule.
- Le nombre de cellule, cela permet de connaître le pourcentage d'ensemble, qui n'est pas forcément visible à l'œil nu.
- La couleur des cellules, avec une quantification de prédominance.
- La décomposition d'une image, afin que l'utilisateur puisse cibler une partie de celle-ci et y effectuer une analyse automatisée.

### 1.3 Livrables

La restitution de ce projet comporte différentes formes : Premièrement, il faudra rendre le code source python commenté du traitement d'images et de l'interface. Deuxièmement, un rapport est également attendu. Celui-ci devra contenir un état de l'art, une description détaillée du déroulement et du développement du projet ainsi qu'une notice d'utilisation de l'interface. Une démonstration de 5 minutes environ sera ensuite réalisée au cours de laquelle des tests du bon fonctionnement de l'interface et de ses fonctionnalités pourront être effectués. Enfin, une soutenance orale aura lieu, le 8 avril pendant laquelle le projet sera décrit à l'aide d'une présentation PowerPoint.

Concernant les échéances, le projet prendra fin le 8 avril lors de cette même soutenance. Les différents livrables devront donc être achevés avant cette date limite. Le code source et l'interface devront notamment être validés par la professeure référente au cours du mois d'avril.

Pour permettre de réaliser toutes ces tâches importantes, un planning prévisionnel du déroulement des différentes étapes a été mis en œuvre. Celui-ci détaillé dans la partie suivante de la gestion de projet permettra une organisation optimale pendant toute la durée de ce travail et il servira également pour avoir une vision claire des objectifs réalisés et de ce qu'il reste à faire avant la date butoir.

## 2- GESTION DE PROJET

### 2.1 Les réunions

Les réunions n'ont pas été programmées à l'avance. Lorsqu'un problème, un questionnement ou le besoin d'avoir une confirmation se présentait, un rendez-vous était pris avec l'enseignant référent. En effet, l'objectif de ce projet étant de travailler en autonomie, il n'était pas nécessaire de prévoir des réunions récurrentes dans la semaine.

Ces entrevues ont eu lieu tout au long du projet à des moments clés : après l'état de l'art, au début du codage, pendant la programmation, lors de la mise au point de l'interface, après la réalisation des coupes d'algues et à la fin de la création de l'interface.

Les discussions avec Mme El Bouz permettaient alors de déterminer des axes d'amélioration à développer par la suite et également de ne pas sortir du sujet principal. Après chaque réunion, était réalisé un compte rendu de réunion permettant de synthétiser ce qui a été dit et de poser par écrit les objectifs. (cf. Annexe 1).

### 2.2 Outils de gestion

Un suivi régulier a été nécessaire tout au long de ce projet pour s'assurer que tout serait terminé dans les temps. Pour cela, des fiches de suivi ont été réalisées à chaque fin de journée, permettant ainsi de faire le point sur ce qui avait été fait, les difficultés rencontrées et les objectifs futurs (cf. Annexe 2). La communication avec Mme El Bouz était facilitée grâce à l'utilisation de Microsoft Teams et les échanges par mail. Cela permettait d'organiser des points à distance.

Un OneDrive a été créé pour le projet, avec un dossier par semaine, ainsi qu'un dossier image afin que le binôme puisse avoir accès aux mêmes documents en temps réel. Au niveau de la planification temporelle, deux applications ont permis d'effectuer le suivi de ce projet. L'application Asana, basée sur le même principe que l'application Ganttpoint, permet de planifier chaque tâche dans le temps, de les répartir et de se rendre compte de ce qu'il faudrait réaliser en parallèle. Cette application a principalement été utile au début du projet pour se projeter et visualiser les objectifs finaux (cf. Figure 2).

Cependant, une fois le projet bien lancé, l'application Trello a pris le relais sur la gestion de projet. Elle a permis le suivi régulier des différents objectifs. L'avantage de cette application est la distribution des différentes tâches en trois colonnes : "A faire", "En cours" et "Terminé" (cf. Figure 1). Il est également possible de créer des checklists, ce qui permet de se fixer des objectifs personnels ou collectifs et de rester motivé tout au long du projet, lorsque l'on voit que le pourcentage du travail réalisé ne fait qu'évoluer. De plus, l'application permet de se fixer des échéances avec un rappel envoyé par mail lorsque celles-ci approchent.

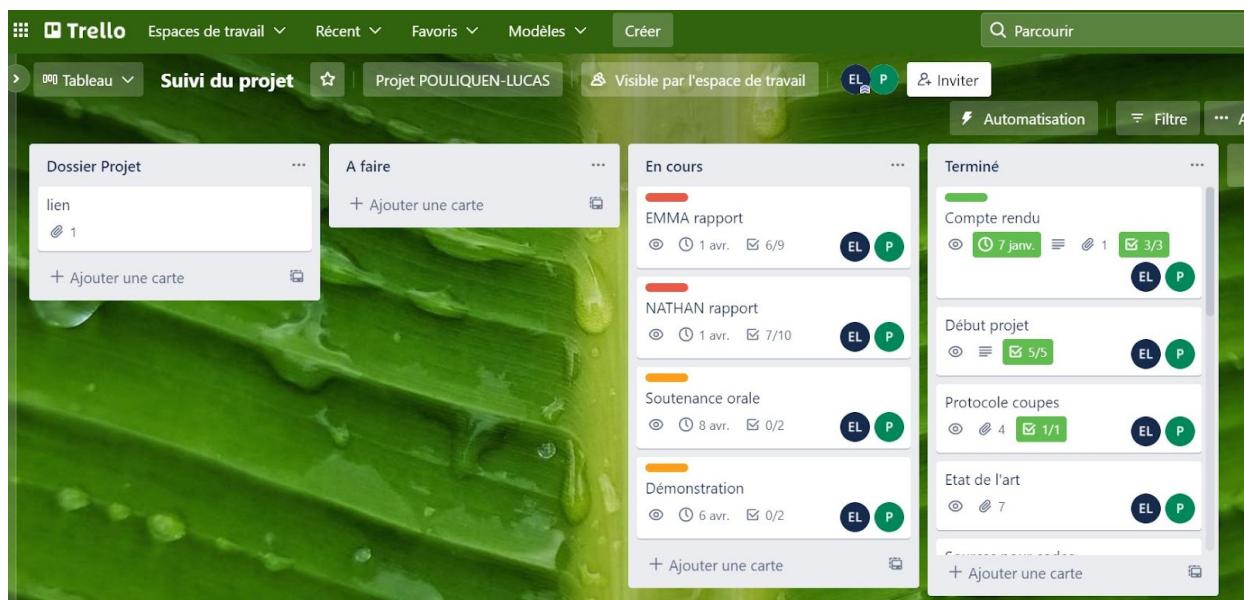


Figure 1 : Capture de l'application Trello, pour la gestion de projet

Asana permet de se projeter dans le temps grâce à la visualisation chronologique des tâches à réaliser tandis que Trello présente l'avancement du projet en temps réel en fonction de ce qu'il reste à faire. Ces deux applications étaient donc intéressantes à utiliser en parallèle.

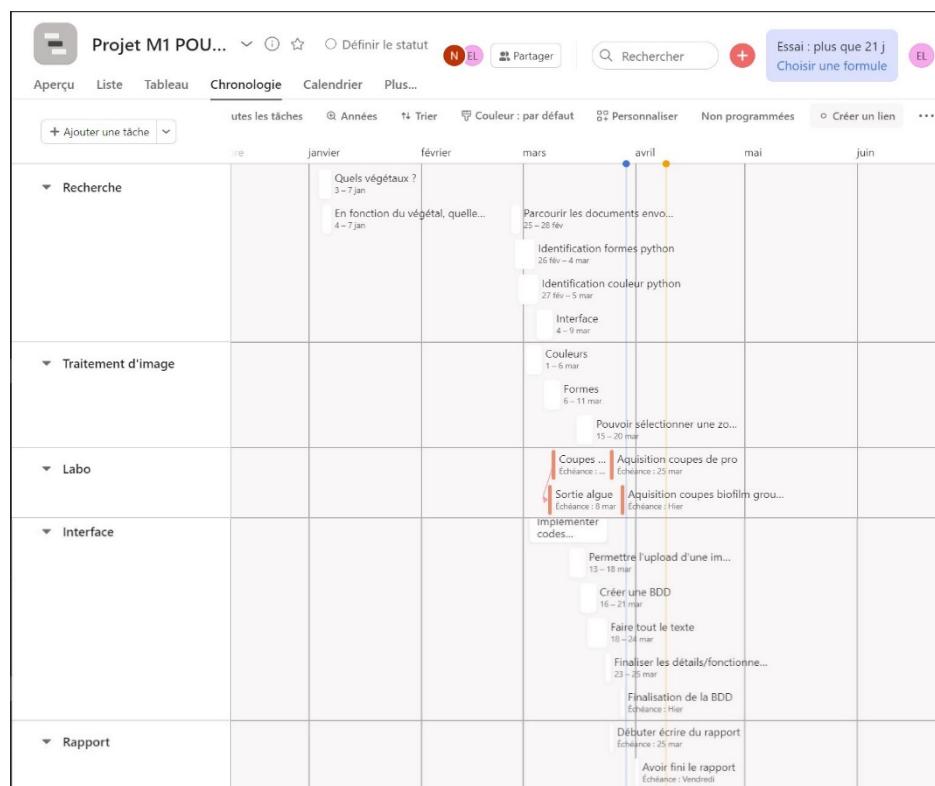


Figure 2 : Capture de l'application Asana, pour la planification de projet

## 2.3 Répartition des tâches

Pour une bonne gestion de projet, il est également important de réfléchir à la répartition du travail à réaliser entre les membres du binôme. Après avoir estimé le temps nécessaire à la réalisation de chaque partie grâce à l'application Asana, certaines tâches pouvaient se faire séparément.

Au début, les recherches ont été faites de manière séparée, afin qu'un maximum d'informations puisse être trouvé. A chaque fois, qu'un travail était réalisé en monôme, un échange sous forme de discussion était programmé pour qu'un compte rendu en commun soit établi.

Beaucoup de décisions communes ont dû être prises pour faire avancer le projet. Ces décisions passaient par des entrevues où chacun exprimait ses idées pour qu'un accord soit trouvé. Il a été question de procéder ainsi, tout au long du projet lors des étapes de documentation durant l'état de l'art, pour le choix des fonctions de traitement d'images, pour les points du développement de l'interface et de son ergonomie ainsi que pour la définition du plan du rapport final.

Tout au long du projet, il a été question d'anticiper et de rentabiliser le temps de travail. Par exemple si Nathan s'occupait d'une fonction pour le traitement d'images ; Emma, serait quant à elle chargée d'effectuer des recherches sur la façon d'implémenter cette fonction et sous quelle forme au sein de l'interface.

Nathan s'est par ailleurs chargé de réaliser l'interface, pendant qu'Emma a consacré son temps de travail pour obtenir une base de données d'images de qualité à inclure dans l'interface et a également pu débuter la rédaction du rapport en parallèle.

De manière évidente, comme décrit, malgré l'affectation des tâches précises à chaque membre du binôme, la communication est l'élément fondamental qui a permis de mener à bien le projet. C'est ce besoin nécessaire d'échanger et de débattre sur tous les sujets qui a permis de résoudre les problèmes rencontrés au fil de ce travail et qui a participé à la réussite du projet dans sa globalité.

### 3- ÉTAT DE L'ART

La microscopie est apparue au 17<sup>e</sup> siècle avec l'invention des premiers microscopes optiques. Au fil du temps, les différentes techniques d'imagerie des objets de petites dimensions se sont développées jusqu'à rendre possible aujourd'hui l'imagerie à l'échelle atomique. La microscopie est de nos jours utilisée dans de nombreuses disciplines scientifiques et son développement a, par exemple, révolutionné la biologie en rendant accessible le monde cellulaire.

Cependant, bien que les techniques d'acquisition des images microscopiques soient de plus en plus précises et perfectionnées, une marge de progression persiste dans le domaine de l'analyse des informations recueillies par les microscopes. En effet, jusqu'à présent, la plupart des mesures réalisées lors d'une observation microscopique d'un échantillon sont réalisées par un technicien de laboratoire comme il a été expliqué précédemment.

Les avancées technologiques et la révolution numérique notamment dans le domaine de l'imagerie ouvrent de grandes opportunités. Ce projet a pour objectif de montrer qu'il est possible d'obtenir des données d'analyse satisfaisantes par un travail de traitement d'images.

Dans cet état de l'art, le travail de documentation réalisé va être détaillé. L'objectif est de pouvoir déterminer le champ des possibles dans ce domaine scientifique et ainsi de prendre les meilleures décisions possibles en faveur de ce projet. Ainsi, la première partie de ce chapitre traitera de la documentation et des choix réalisés pour sélectionner un objet d'étude adapté aux contraintes du sujet. La seconde partie, plus orientée technique, permettra de faire un bilan des méthodes d'analyses disponibles en matière de traitement d'images et de collecte d'informations.

#### 3.1 Documentation sur les objets d'études possibles

Le sujet de l'analyse automatisée de coupes fines d'échantillons d'objets est un sujet très vaste étant donné la diversité des éléments que l'on peut analyser, observer et décrire. Dans un premier temps, il a été nécessaire de faire un choix pour recentrer le projet sur un domaine d'étude précis et ainsi concentrer les efforts sur des éléments de la même catégorie. En effet, la décision de ne pas choisir un domaine spécifique aurait été une erreur tant la discipline du traitement d'images demande une précision et une rigueur importantes.

La microscopie est très développée dans le domaine de la biologie et le choix entre l'étude de cellules animales, végétales ou d'origine bactérienne était très important pour la suite du travail. Avec les conseils de Mme El Bouz et le soutien de Mme Pigney, les recherches ont été rapidement orientées sur l'étude des végétaux. En effet, l'étude de ce type de cellules paraît être une stratégie moins complexe à mettre en place du fait de l'abondance des échantillons dans la nature et la quantité d'informations très importantes à ce sujet. De plus, cet objet d'étude présente moins de contraintes pour commencer le projet.

Cet ouvrage<sup>1</sup>, en partie fourni par Mme Pigney, détaille de manière extrêmement précise la constitution morphologique de très nombreuses espèces végétales. Ainsi, pour parvenir à mener à bien le projet, il a été nécessaire de procéder à un tri des espèces les plus pertinentes à analyser. En effet, le type de végétal sélectionné se devait d'être présent en quantité suffisante pour pouvoir en récolter dans l'optique d'acquisitions futures. Celui-ci devait également être relativement facile à déterminer parmi plusieurs autres espèces.

Après plusieurs jours de réflexion et en recoupant les données récoltées avec d'autres documents, la décision a été prise de concentrer l'analyse sur un objet d'étude caractéristique de notre région : les algues. En effet, les algues sont des végétaux que l'on retrouve en abondance au sein de la région Bretagne sur le bord des plages, dans les cours d'eau ou encore sur les façades des bâtiments. Ce sujet était d'autant plus intéressant qu'il permettait d'ouvrir la possibilité de recouper le projet avec un second : Celui de l'étude hyperspectrale du développement de biofilm dans des bassins contenant des truites arc-en-ciel. Ce rapprochement permettrait ainsi de servir de vérité terrain à ce projet en validant une tendance par l'analyse d'images acquises au microscope optique.

Le travail de documentation<sup>2</sup> réalisé sur les algues montre qu'il existe, en outre, un très grand nombre d'espèces dans le monde. Ce chiffre varie selon les études et les estimations mais celui-ci pourrait aller de 30000 à plusieurs millions d'espèces. Ainsi, par soucis de simplification et pour avoir une chance d'obtenir des résultats, il a été décidé de limiter l'analyse à 4 grands groupes que l'on pourrait retrouver en Bretagne : les algues vertes, les algues rouges, les algues brunes et un groupe à part, les cyanobactéries. La définition des différentes caractéristiques permettant de distinguer ces 4 groupes (cf. Figure 3) a ainsi permis d'identifier les critères qui seraient utiles à prendre en compte dans le travail de traitement d'images.

---

<sup>1</sup> Précis de botanique tome 1, Grassé & al édition Masson

<sup>2</sup> Atlas de phylogénie, édition Dunod, D Richard, R. Nattier, G. Richard, T. Soubaya

	Pigments	Critères cellulaires	Famille mère + filles + mode de vie
algues vertes (eucaryote)	chlorophylles a et b, carotène, xanthophylles	amidon intraplastidial	Chlorobiontes ==> Chlorophytes (côtes, eau douce, terrestre ) + ==> Streptophytes ( aquatique non marin )
algues rouges (eucaryote)	chlorophylle a, carotène, phycoérythrine, phycocyanine	amidon extraplastidial (appelé rhodamylon), glucane de réserve <=> polymères de glucose (cellulose,mannanes, xylanes) ,disparition de la motricité cellulaire	Rhodobiontes (aquatique, marine)
algues brunes (eucaryote)	chlorophylle a et c, carotène, fucoxanthines (pour certaines)	réserves cytoplasmiques et vacuolaires diverses, présence exosquelette chez les diatomées par ex	Straménopiles ==> Phéophycées (marine ) + ==> Diatomées (aquatique)
cyanobactéries (procaryote)[algues bleues]	chlorophylles, carotène, fucoxanthines (pour certaines)	pas de noyau car procaryotes (bactéries particulières)	

Figure 3 : Tableau rassemblant les caractéristiques exploitables des différents types d'algues

### 3.2 Documentation sur les méthodes d'analyses disponibles et possibles

Avant de commencer à entrer dans la partie technique du projet, il était nécessaire de déterminer quelle méthode de traitement d'images serait la plus adaptée pour la réalisation du projet. En effet, avant de se lancer dans un traitement d'informations complexes, il est important de se munir des meilleurs outils pour obtenir des résultats satisfaisants. Une analyse des différents protocoles de traitements d'images disponibles a été réalisée pour sélectionner la bibliothèque la plus adaptée pour un projet de cette dimension.

Les techniques de traitement d'images et de données ont davantage été enseignées à travers le langage de programmation Matlab. Ainsi, Mme El Bouz nous a fourni des codes en lien avec cette discipline pour permettre de se rendre compte de ce qu'il était possible de réaliser. Cependant, le projet prévoit de réaliser un système automatisé de traitement d'images fonctionnant sous Python. Ainsi, la nécessité de prendre en main une bibliothèque prise en charge par ce langage de programmation interprété peut paraître complexe au premier abord.

Après un travail de recherche sur les techniques utilisées dans ce domaine, plusieurs bibliothèques spécialisées ont été définies. Des noms comme OpenCV, TensorFlow, PyTorch ou OpenCL sont apparus comme étant les plus adaptés pour le travail à réaliser. Parmi ces bibliothèques, de nombreux exemples d'applications ont permis de faire un point sur ce qu'il était possible de faire dans l'optique de l'analyse des propriétés des échantillons concernés.

Ainsi, la bibliothèque OpenCV a été choisie pour aider à la réalisation des objectifs fixés par le projet. OpenCV pour Open Computer Vision est une bibliothèque graphique libre développée par Intel et spécialisée dans le traitement d'images en temps réel. Cette bibliothèque utilise une branche de l'intelligence artificielle qui est la vision par ordinateur. Celle-ci a pour principal objectif de permettre à une machine d'analyser, traiter et comprendre des images prises par un système. En l'occurrence, une image dans le cadre de ce projet.

De plus, OpenCV a l'avantage de fournir un ensemble de plus de 2500 algorithmes de vision par ordinateur. Ceux-ci sont disponibles en appelant les modules nécessaires. Ce nombre très élevé de fonctions permet d'effectuer un panel d'applications extrêmement varié dans le domaine du traitement d'images.

Ces algorithmes, par ailleurs, se basent principalement sur des calculs mathématiques complexes en prenant en compte le traitement matriciel des images. En effet, une image peut être considérée comme une matrice de pixels, chaque pixel mis bout à bout permet de reconstituer l'image. Les informations que contient chaque pixel (couleurs, formes, ...) permettent de réaliser des opérations d'analyse très poussées.

Les possibilités exposées par l'utilisation de la bibliothèque OpenCV étant très nombreuses, il a également été nécessaire de réaliser une sélection pour ne garder que certaines fonctionnalités dont la pertinence correspondait bien avec le sujet et l'objet d'étude ainsi choisi.

La capacité à analyser les formes et les couleurs dans une image est apparue comme une nécessité pour la réalisation du projet. Une documentation plus détaillée de la bibliothèque OpenCV a permis de mettre en évidence la possibilité d'appliquer des filtres variés sur l'image d'origine afin de mettre en évidence une forme ou une couleur. Au moyen de nombreuses recherches, les principaux éléments à utiliser pour la réalisation du projet ont été déterminés. Ils seront expliqués plus en détails dans le chapitre traitant du développement technique du projet.

Dans cet état de l'art, les différentes options pour traiter des images microscopiques ont été abordées. La bibliothèque OpenCV est celle que l'on retiendra pour son accessibilité et son utilité pour l'analyse des formes et des couleurs. En effet, les recherches documentaires ont, quant à elles, permis de confirmer que le choix de coupes d'échantillons végétaux allait permettre une analyse satisfaisante des images à travers les différents éléments qui les composent.

Il sera judicieux par la suite, d'effectuer des recherches sur le framework Streamlit, afin d'implémenter le traitement d'images pour la réalisation d'une interface. Ce travail sera réalisé dans la partie développement.

## 4- DÉVELOPPEMENT

Comme indiqué dans le cahier des charges, avant de commencer le développement du projet à proprement parler, un travail de recherche et de l'état de l'art a d'abord été réalisé. En effet, pour éviter tout développement qui serait susceptible d'évoluer dans une mauvaise direction, il a été nécessaire d'établir un cadre précis, des objectifs clairs et une vision commune partagée de tous. C'est ainsi que la partie technique du développement a été rendue possible et qu'il est judicieux de la décliner en trois parties. La première partie traite de la réalisation des coupes d'algues et de leurs acquisitions au microscope. La seconde a ensuite été l'élaboration de codes de programmation pour traiter les images. Enfin, la dernière partie concerne la réalisation d'une interface utilisateur pour présenter les résultats des points précédents.

### 4.1 Réalisation de coupes d'algues et leurs acquisitions au microscope

#### 4.1.1 Identification des éléments sur les coupes d'algues

A partir de l'état de l'art, les différentes caractéristiques des algues qu'il est possible de mettre en évidence ont été établies à travers le traitement d'images.

Rappelons que l'objectif fixé précédemment est d'identifier les différentes catégories d'algues vertes, rouges, brunes ainsi que certaines cyanobactéries. L'isolement et l'identification des cyanobactéries est un second objectif qui permettrait, à l'échelle humaine, une prévention rapide par l'analyse des plans d'eau évitant ainsi d'impacter la santé des personnes en contact avec une eau potentiellement contaminée.

Après discussion avec Mme Pigney, il s'est révélé que l'identification des cyanobactéries sur des coupes microscopiques observées au microscope optique serait particulièrement difficile.

Néanmoins, les algues vertes, rouges et brunes possèdent des pigments chlorophylliens facilement différenciables. De plus, il a été déterminé que les algues vertes sont constituées de chloroplastes tandis que les algues rouges et brunes présentent, quant à elles, des thylakoïdes. Après avoir identifié ces caractéristiques, il a été question de se demander s'il était possible de les visualiser au microscope optique afin que l'algorithme qui sera présenté par la suite puisse identifier ces formes d'intérêt.

Les chloroplastes sont observables au microscope optique cependant les thylakoïdes sont observables uniquement au microscope électronique. Cela constitue un problème, en effet ce type de dispositif n'est pas disponible au sein des locaux de l'ISEN.

La problématique se pose : Comment faire pour identifier les différentes catégories d'algues s'il n'est pas possible d'observer leurs différences au microscope ?

Après multiples réflexions, une solution a été envisagée :

Le développement du projet serait basé sur la mise au point de 2 stratégies de traitement d'images. La première permettrait de traiter les images microscopiques obtenues à partir des coupes d'algues réalisées. La seconde aurait pour objectif d'analyser des images réalisées en microscopie électronique trouvées sur internet.

Après rendez-vous avec Mme El Bouz, il a été mis en évidence que les objectifs envisagés seraient difficiles à atteindre et qu'il serait plus pertinent de se concentrer principalement sur l'identification de formes facilement identifiables ainsi que des couleurs.

Le principal objet d'étude resterait donc les algues, cependant, le développement du système d'analyse automatisée de coupes fines devrait également fonctionner sur tout autre coupe de végétal voire même sur des cellules animales et bactériologiques.

#### 4.1.2 Ramassage, coupes d'algues et acquisition

Bien que, l'objectif de vouloir identifier absolument certaines caractéristiques très complexes des algues ait été mis entre parenthèses. La réalisation de coupes d'échantillons d'algues a malgré tout été effectuée.

Pour réaliser cette étape du développement, un protocole a été rédigé pour décrire le contexte et la manière de procéder pour la réalisation des coupes d'échantillons d'algues (cf. Annexe 3).

Avant d'appliquer le protocole, il est nécessaire de spécifier que la collecte des algues a été réalisée à la plage Sainte-Anne du Portzic, sur laquelle plusieurs échantillons d'algues vertes, brunes et rouges étaient présentes et ont ainsi pu être récoltées (cf. Figure 4). Ceux-ci ont par la suite été conservés une nuit au réfrigérateur dans leur eau de mer dans l'attente de la réalisation du protocole expérimental.



Figure 4 : Images des algues récoltées : algues brunes, algues rouges et algues vertes

Lors de la réalisation des coupes, des difficultés ont été rencontrées. En effet, l'algue étant constamment en contact avec le sel de l'eau de mer, elle se dessèche et se rétracte une fois enlevée de son milieu naturel. Pour une bonne observation au microscope, il est cependant nécessaire que l'échantillon soit aplati pour obtenir les résultats les plus nets possibles.

Une seconde difficulté a été de réaliser des coupes suffisamment fines. L'absence de microtome à l'ISEN ne permet pas d'obtenir des coupes d'une finesse suffisante pour un résultat optimal.

Malgré ces difficultés, certaines lames particulièrement fines ont pu être observées au microscope optique à l'aide du grossissement x4 ou x10. Des essais avec le grossissement x100 et de l'huile à immersion se sont révélés trop peu précis pour permettre un traitement d'images en aval.

L'acquisition a été réalisée avec l'aide du logiciel LAS EZ. En amont de la manipulation, il a été nécessaire de télécharger ce logiciel et de le prendre en main à l'aide du manuel transmis par Mme Chaillou. Il a également été judicieux d'étalonner le microscope dans le logiciel à l'aide d'une lame micrométrique, afin que les images microscopiques obtenues soient calibrées en fonction de leur grossissement (cf. Figure 5, Annexe 4).

Nom	Grossissement	Longueur	Unités
4x	2,1061	2,9	mm
10x	5,0844	1,2	mm
40x	20,3588	0,3	mm
100x	50,9711	0,1	mm

**Figure 5 : Tableau des valeurs obtenues à l'aide de la lame micrométrique**

Les images ainsi obtenues sont exploitables, cependant comme envisagé, celles-ci ne sont pas d'une qualité optimale. En effet, le fait que les coupes ne soient pas de l'ordre du micromètre d'épaisseur a rendu impossible l'obtention d'un résultat parfaitement satisfaisant mais certaines d'entre-elles ont par ailleurs permis l'obtention d'images de qualité (cf. Figure 6, 7, 8, 9).

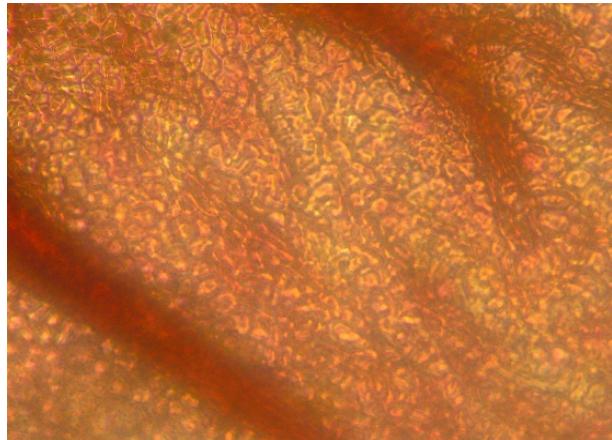


Figure 6 : Coupe d'algue rouge



Figure 7 : Coupe d'algue verte

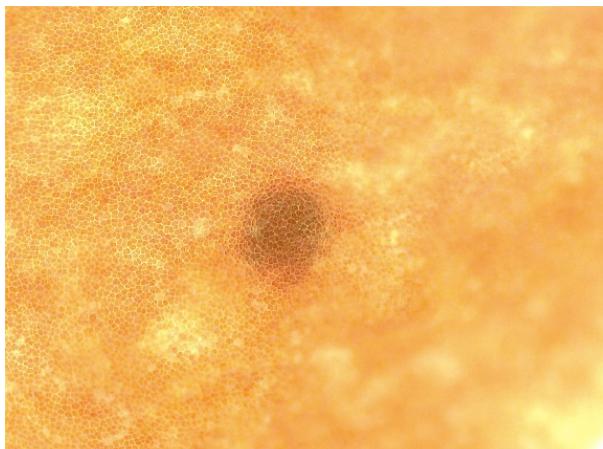


Figure 8 : Coupe d'algue rouge

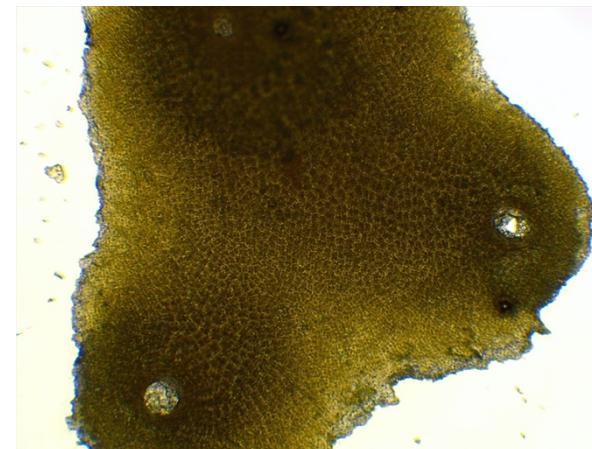


Figure 9 : Coupe d'algue brune

L'acquisition de coupes d'échantillons de végétaux appartenant à l'ISEN réalisées par des professionnels (cf. Figure 10, 11, 12), a permis d'agrandir la banque de données d'images disponibles et de bonne qualité. En effet, ces images nettes peuvent être exploitées pour la détection de forme et de couleurs, ce qui participe à corroborer le travail de traitement d'images fixé par le client.

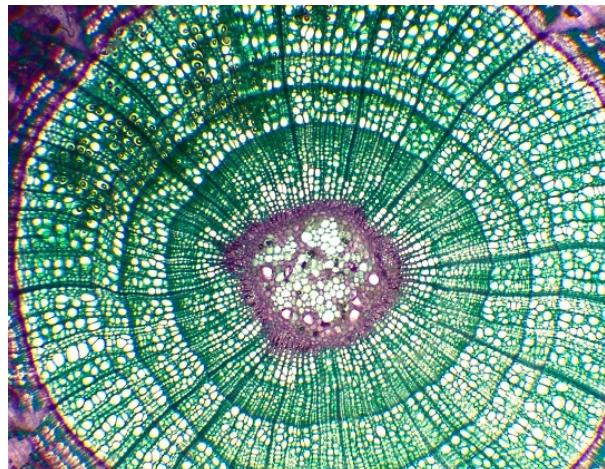


Figure 10 : Coupe tige de tilleul



Figure 11 : coupe feuille de maïs



Figure 12 : Coupe de dicotylédones et renoncules

## 4.2 Traitement d'images

Le traitement d'images est une discipline qui lie le domaine de l'informatique à celui des mathématiques. En effet, l'objectif de cette science est d'étudier le comportement et la structure des images numériques ainsi que leurs transformations dans le but de réaliser une modification structurelle de celle-ci ou d'en extraire de l'information. Le traitement d'images fait partie d'un sous-ensemble du traitement du signal qui s'intéresse, comme son nom l'indique, aux images.

Dans le déroulement du développement de ce projet, il paraît alors tout naturel que cette étape se place juste après celles de l'acquisition et de la numérisation des coupes visualisées au microscope. Cette phase de développement a en effet pour objectif d'assurer le prétraitement de l'image ainsi que la partie collecte des données permettant d'obtenir une interprétation des images traitées.

### 4.2.1 Techniques d'application de filtres

Avant de procéder à une analyse en profondeur de l'image considérée, il est parfois nécessaire de procéder à un traitement préalable de celle-ci pour faire ressortir les différentes informations nécessaires à l'application d'algorithmes de détection de formes, de couleurs ou autres techniques. En effet, le principe du filtrage en traitement d'images est de modifier la valeur des pixels que contient l'image pour permettre de manipuler les données afin d'obtenir l'information utile pour l'application d'algorithmes de détection.

Avant de détailler les différentes fonctionnalités développées dans ce projet, il semble donc essentiel de décrire les différents filtres ou procédés de filtration qui ont été utiles pour l'obtention d'images parfaitement disposées à être intégrées à des algorithmes de détection. Ainsi, cette section du développement contient une description de 3 filtres indispensables pour l'obtention des informations nécessaires au fonctionnement des algorithmes de traitement d'images détaillés par la suite. Il est également fait état de la manière dont ces filtres ont été apposés à l'image d'origine pour manipuler les données à bon escient.

#### 4.2.1.1 Filtre BGR to RGB

L'utilisation d'OpenCV présente bien des avantages comme présentés dans le chapitre de l'état de l'art. Cependant, il possède un inconvénient majeur qui semble important de détailler car il peut être une source d'erreur majeure tant le procédé semble contre-intuitif. Lors de la lecture des images avec le module OpenCV, les images sont ainsi lues en prenant en compte les couleurs des pixels dans un ordre particulier.

Le mode RGB est le système colorimétrique informatique le plus communément utilisé pour la lecture de l'information des couleurs des pixels. Cependant, la bibliothèque OpenCV utilise historiquement le mode BGR pour lire les images numériques. Cela peut poser un problème lors de l'affichage de l'image. Pour résoudre cette problématique, un filtre permettant de passer du mode BGR au mode RGB doit être appliqué pour revenir à un mode d'affichage qui correspond effectivement à ce que l'observateur aura observé lors de son acquisition au microscope.

Dans la plupart des opérations de traitement d'un signal, l'application d'un filtre entraîne le plus souvent une perte d'une plus ou moins grande partie de l'information originelle. Un avantage majeur de l'utilisation de ce filtre est qu'il ne conduit à aucune perte d'information. Celui-ci va uniquement échanger la composante rouge avec le bleu et inversement. Il agit comme une sorte de miroir qui permet d'inverser l'ordre de lecture des couleurs sans changer l'information des pixels de l'image.

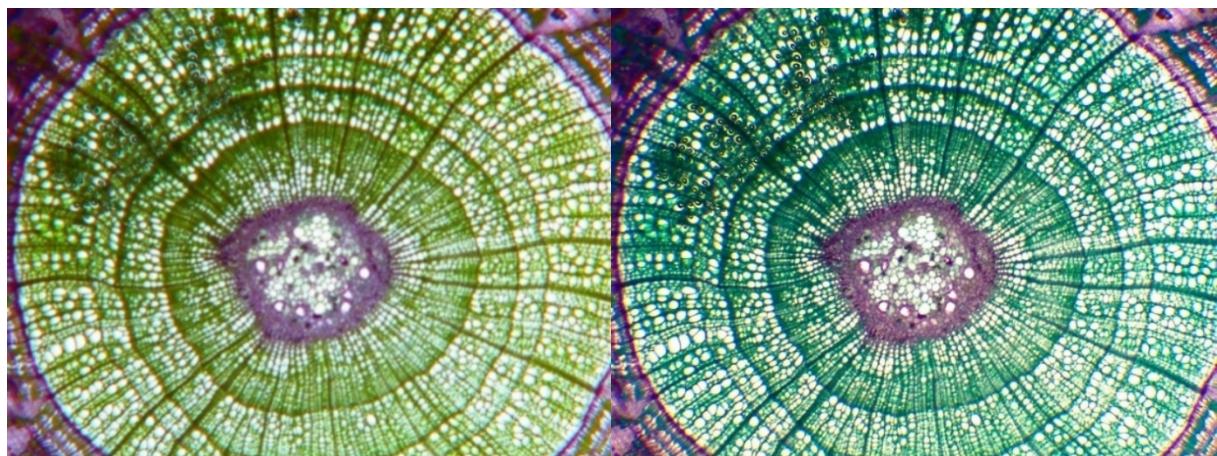


Figure 13 : Image lue au format BGR

Figure 14 : Image lue au format RGB

#### 4.2.1.2 Filtre de niveaux de gris

La mise à l'échelle des gris est un processus qui a pour but de convertir une image faisant partie d'autres espaces colorimétriques, par exemple RGB et BGR vus précédemment, en nuances de gris. Une image en niveaux de gris s'oppose à une image en noir et blanc dans laquelle chaque pixel est soit noir, soit blanc. En effet, bien que la couleur varie entre le noir complet et le blanc complet, le nombre de nuances de gris peut varier de 16 (code sur 4 bits) à 256, correspondant au codage sur un octet par pixel. Ce nombre variable de nuance va être différent en fonction de l'usage envisagé.

L'importance de l'utilisation de ce filtre de niveaux de gris contient 3 avantages qui justifient son utilisation dans les fonctionnalités qui seront détaillées par la suite :

- Le premier avantage consiste à réduire la dimension de l'image. En effet, dans une image de couleur classique, il existe 3 canaux de couleur : le rouge (R), le vert (G) et le bleu (B). Ces canaux analogues aux cônes présents dans l'œil humain forment une matrice à trois dimensions. Ce filtre va ainsi coder chaque pixel selon une information unidimensionnelle.
- Le second avantage consécutif au premier est la réduction de la complexité du modèle. En effet, le passage d'un modèle tridimensionnel à un modèle unidimensionnel va permettre de diminuer la quantité d'informations à prendre en considération et ainsi rendre plus simple l'utilisation d'algorithmes de détection.
- Un dernier point important de l'utilisation de ce filtre est pour permettre le fonctionnement d'algorithmes fonctionnant sous OpenCV. En effet, dans cette bibliothèque, de nombreux modules sont destinés à ne fonctionner uniquement avec des images traitées en niveaux de gris. C'est le cas de la fonction détaillée ensuite, l'outil de détection des contours : Canny.

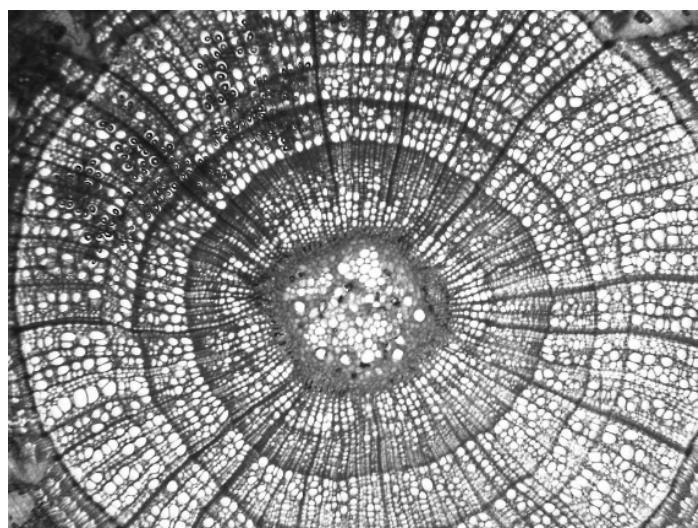


Figure 15 : Image lue en niveaux de gris

#### 4.2.1.3 Filtre Canny

Le filtre Canny est un algorithme de détection des contours utilisé en traitement d'images. Cet outil a été développé en 1986 par John Canny pour fonctionner selon 3 critères bien définis :

- Bonne détection : Le premier critère doit se concentrer sur la détection d'un contour avec un faible taux d'erreur. En d'autres termes, cela signifie que la détection doit capturer avec précision autant de contours que possible dans l'image.
- Bonne localisation : Le point du contour détecté par l'ordinateur doit être localisé avec précision au centre de celui-ci.
- Clarté de la réponse : Un contour repéré sur l'image ne doit être marqué qu'une seule fois, et dans la mesure du possible, le bruit de l'image ne doit pas créer de faux contours.

Parmi les méthodes de détection des formes développés jusqu'alors, l'algorithme de détection des contours de Canny est l'une des méthodes les plus strictement définies et qui permet d'obtenir une détection satisfaisante et fiable. En raison de sa capacité à répondre de manière optimale aux trois critères précédemment cités ainsi que la simplicité relative du processus de mise en œuvre, cet algorithme de détection des bords est devenu l'un des plus populaires dans le domaine. Ainsi, c'est cet outil qui sera adopté pour réaliser les algorithmes de détection des formes dans la section qui va suivre.

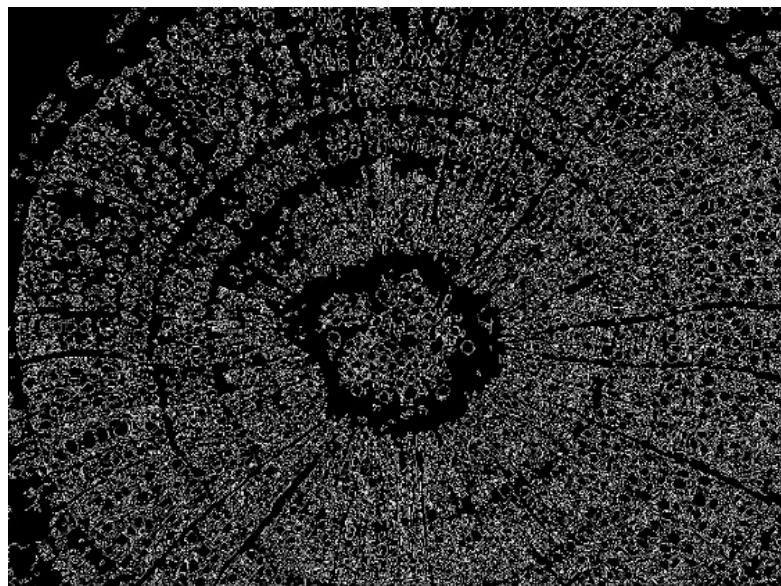


Figure 16 : Image lue avec le filtre Canny

Dans le domaine du traitement d'images, lorsque les informations que l'on souhaite obtenir se complexifient, il est très rare de n'avoir besoin que d'un seul filtre pour réussir à acquérir les données nécessaires. Ainsi, il existe plusieurs techniques disponibles pour résoudre cette problématique.

#### 4.2.1.4 Technique de Superposition

Une première solution mise en œuvre est la technique de superposition successive de plusieurs filtres différents jusqu'à obtention du résultat voulu. En d'autres termes, cette stratégie consiste à appliquer, un par un, les différents filtres sur l'image d'origine. Cette technique est très progressive et permet de valider, étapes par étapes, la bonne utilisation de chacun des filtres apposés sur l'image.

C'est cette stratégie qui sera la plus utilisée dans le développement des algorithmes de détection car elle permet d'identifier facilement et rapidement la source potentielle d'erreur. En effet, à chaque étape, il est possible de vérifier visuellement le résultat obtenu en affichant l'image ainsi créée.

Avantages :	Inconvénients :
<ul style="list-style-type: none"> <li>Apposition des filtres les uns à la suite des autres.</li> <li>Possibilité de vérifier le résultat obtenu à chaque utilisation d'un filtre et ainsi de valider les différentes étapes réalisées.</li> <li>Détection très rapide des erreurs potentielles.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>La disposition des filtres à la suite dans le code peut rendre difficile la lecture par une personne extérieure au projet.</li> <li>Diminution de la vitesse d'exécution de l'algorithme.</li> </ul>

Figure 17 : Tableau exposant les avantages et les inconvénients de la Superposition

#### 4.2.1.5 Technique de Concaténation

La seconde technique utilisée dans le développement de ce projet est l'utilisation d'un outil de concaténation des filtres. Il est possible de faire l'analogie entre l'application de cet outil et l'utilité des portes logiques AND que l'on retrouve dans le domaine de l'électronique. En effet, au lieu d'appliquer des filtres les uns à la suite des autres, cette technique permet de gagner en rapidité en apposant directement deux filtres différents sur l'image d'origine.

Un module d'OpenCV va ensuite prendre en charge les 2 filtres considérés et va ainsi les appliquer à l'image pour traiter les informations voulues et les modifier de la façon souhaitée. Cette stratégie permet ainsi de gagner en lisibilité dans le cadre d'un algorithme qui nécessiterait l'utilisation de nombreux filtres de détection comme notamment la détection des contours avec les filtres Canny.

C'est donc cette fonctionnalité qui sera de préférence utilisée dans l'outil de détection des formes qui sera traité par la suite.

<b>Avantages :</b>	<b>Inconvénients :</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rapidité d'exécution optimisée</li> <li>• Simplification de la structure de l'algorithme rendant la lecture plus facile par une personne extérieure au projet.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Débogage plus difficile sachant que tous les filtres sont apposés en même temps.</li> </ul>

**Figure 18 : Tableau exposant les avantages et les inconvénients de la Concaténation**

#### 4.2.2 Détection des formes

Après avoir détaillé les différentes techniques de prétraitement de l'image nécessaire pour l'application des algorithmes de détection, il est maintenant temps de détailler les différentes fonctionnalités développées dans le cadre de ce projet à commencer par le dispositif de détection des formes.

##### 4.2.2.1 Piste de développement et choix réalisés

Comme détaillé précédemment dans l'état de l'art, OpenCV permet de détecter de nombreux éléments étant donné la variété d'algorithmes disponibles dans cette bibliothèque. Il a ainsi été question de choisir quelles formes seraient pertinentes à analyser dans l'étude de coupes fines de végétaux en particulier les algues. Plusieurs pistes de développement ont été anticipées et de nombreux tests d'algorithmes ont été effectués pour définir quelle forme serait la plus intéressante à étudier. Il fallait également que les résultats soient fiables en limitant toute randomisation ou incohérence.

Ainsi, les recherches se sont concentrées sur les techniques de détection des rectangles et des cercles. La mise au point d'algorithmes tests pour déterminer l'objet d'étude le plus adapté a permis de dresser des tableaux permettant de peser le pour et le contre dans chaque cas.

Détection des rectangles :

<b>Avantages :</b>	<b>Inconvénients :</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Intérêt pour déterminer une succession de cellules alignées dans l'image.</li> <li>• Détection de cellules pouvant être considérées comme des rectangles.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grande source de faux positifs.</li> <li>• Résultats parfois incohérents.</li> <li>• Très peu de cellules détectées avec cette méthode.</li> </ul>

**Figure 19 : Tableau exposant les avantages et les inconvénients pour la détection de rectangles**

Détection des cercles :

<b>Avantages :</b>	<b>Inconvénients :</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Très grande concentration de cercles bien définis dans l'image.</li> <li>• Bonne détection des cercles avec un taux de faux positifs satisfaisants.</li> <li>• Intérêt majeur pour le travail du manipulateur.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Définition des seuils difficile.</li> <li>• Nécessite un réglage précis pour une détection fiable.</li> </ul>

**Figure 20 : Tableau exposant les avantages et les inconvénients pour la détection de cercles**

L'évaluation préliminaire ayant été réalisée, il a été décidé que le développement de l'algorithme de détection des formes serait axé sur la localisation des cercles dans l'image.

#### 4.2.2.2 Méthode

La méthode utilisée pour la mise en œuvre de l'outil de détection des cercles de l'image reprend les techniques de filtrage exposées précédemment ainsi qu'un module spécifique de la bibliothèque OpenCV. On peut ainsi séparer la méthode de création de cet algorithme en deux parties.

Dans un premier temps, dans la logique de ce qui a été détaillé précédemment, un travail de prétraitement de l'image est nécessaire pour rendre celle-ci utilisable dans la seconde phase. Une transformation de l'image en couleur vers une image mise à l'échelle de gris va être réalisée en appliquant un filtre de niveaux de gris. Ainsi, la méthode de détection des contours de Canny va être rendue disponible. Ensuite, avec l'aide de la technique de concaténation des filtres exposée précédemment, plusieurs filtres de type Canny vont être appliqués à l'image d'origine. Ceux-ci, contenant des paramètres différents vont ainsi être appliqués à l'image en niveaux de gris pour faire apparaître une image contenant un maximum de contours. On obtient alors une image bien différente de celle d'origine mais qui correspond bien à ce que l'algorithme de détection des formes nécessite.

Dans un second temps, maintenant que l'image est prête pour être prise en charge par le module de détection des cercles choisi dans la bibliothèque OpenCV, le vrai travail de détection va pouvoir se lancer. Ainsi, l'algorithme dénommé HoughCircles prend en compte de nombreux paramètres de détection qu'il est nécessaire de bien configurer pour une détection optimale des cercles de l'image.

#### 4.2.2.3 Réglage des seuils

Le réglage des seuils de détection est un travail de patience et cela nécessite de faire preuve d'un haut niveau de concentration. En effet, bien que la bibliothèque OpenCV soit très réputée, la documentation sur la façon de régler les différents paramètres que l'algorithme prend en compte est très succincte et ne permet pas de comprendre parfaitement le comportement de celui-ci.

Une seconde difficulté rencontrée pendant cet exercice est que selon le grossissement considéré lors de l'acquisition des images, la taille des cercles varie beaucoup. Il a donc été nécessaire de faire un choix pour déterminer l'intervalle à considérer entre la valeur minimale du rayon des cercles à détecter et la valeur maximale. Il a finalement été décidé de détecter principalement des cercles de petite taille et nombreux plutôt que des cercles de grand rayon mais pouvant être facilement et rapidement dénombrés par l'œil humain.

### 4.2.3 Détection des couleurs

À la suite du travail de détection des cercles réalisé dans la partie précédente, il a été nécessaire de se pencher sur le second axe de développement du projet, la détection des couleurs

#### 4.2.3.1 Couleurs prédominantes

Une première approche de cette partie du traitement d'images est de déterminer quelles sont les couleurs prédominantes dans l'image pour permettre à l'examinateur d'avoir un ordre d'idée sur la composition colorimétrique de celle-ci. Ce travail nécessite d'utiliser un outil de traitement des données qui entre dans la sphère des Big Data et de l'IA. En effet, le nombre de couleurs disponibles avec l'affichage colorimétrique RGB est très grand étant donné que pour les 3 paramètres, chacun peut prendre 256 valeurs. Ainsi on obtient un nombre de combinaisons de  $256^3$  soit 16 777 216 combinaisons de couleurs différentes.

#### **Méthode**

La méthode ainsi envisagée utilise la méthode des K-means. En effet, cette technique de clustering est très répandue et permet de regrouper différents groupes (clusters) de couleurs en faisant une moyenne pour déterminer une couleur particulière pour chacun des groupes considérés.

Un algorithme disponible dans la librairie spécialisée dans le Machine Learning : Scikit-learn a été utilisé pour adopter cette méthode à l'analyse des différentes couleurs prédominantes. La stratégie est relativement simple à mettre au point. Tout d'abord, la définition du nombre de k-clusters à prendre en compte dans l'image est un paramètre important car c'est celui-ci qui va déterminer le nombre de groupes de couleurs créés. Ainsi, avec un travail de traitement des données recueillies, une liste de la taille des clusters demandés va être créée indiquant à chaque fois la couleur et le pourcentage d'occurrence de celle-ci. On obtient effectivement ici une perte de données par le calcul des moyennes, cependant cela permettra de donner un ordre de grandeur très visuel au technicien de laboratoire.

#### **Mode d'affichage des données**

Une manière d'autant plus visuelle pour exposer le résultat de l'exécution de cet algorithme est d'afficher les valeurs obtenues sous la forme d'un diagramme circulaire avec l'aide de la bibliothèque de visualisation : Matplotlib. La création de celui-ci va permettre d'afficher les proportions des différentes couleurs déterminées. Cette fonctionnalité semble très utile pour assister le manipulateur dans son travail étant donné que la plupart de ces approximations sont souvent faites manuellement sans outils de détection permettant de valider les hypothèses énoncées par celui-ci.

#### 4.2.3.2 Couleur spécifique

Une seconde approche de cette partie détection des couleurs est de repérer de manière unique une couleur en particulier dans l'image. Cette fonctionnalité a pour objectif de déterminer avec précision le taux de remplissage de la couleur dans la totalité de l'image ainsi que de visualiser uniquement les zones concernées par cette couleur.

#### **Méthode**

La stratégie adoptée pour établir ce traitement d'informations sur l'image utilise encore une fois la technique de concaténation développée par ailleurs et le principe de la porte logique AND. En effet, après de nombreuses leçons de logique combinatoire, l'idée est venue d'utiliser un masque dit « AND » pour ne conserver seulement la valeur de la donnée voulue. De plus, la définition de plusieurs intervalles de valeurs allant du plus clair au plus foncé a permis de faire la différence entre des couleurs dont l'occurrence est apparue comme forte avec l'expérience des acquisitions réalisées.

Ainsi, il a été décidé de sélectionner 8 couleurs spécifiques à analyser pour répondre au maximum aux contraintes techniques et au cahier des charges dressé par le client. Les couleurs sont les suivantes : bleu, marron, vert, orange, violet, rouge, blanc et jaune.

#### **Réglage des seuils**

Bien que la méthode exposée en amont paraisse simple au premier abord, la plus grande difficulté de mise en œuvre de cette fonctionnalité est celle du réglage approprié des intervalles de couleurs. En effet, trouver le bon réglage entre les différentes couleurs est un travail qui se révèle être particulièrement complexe tant le nombre de combinaisons de valeurs possibles est élevé (256<sup>3</sup>). Le calibrage de ces seuils a donc été effectué en procédant à un travail long et minutieux d'essais-erreurs pour déterminer une à une les valeurs qui seraient les plus adaptées pour correspondre à la couleur souhaitée.

## Tests de validation

Pour valider le travail de réglage des seuils de détection, une technique qui est apparue relativement efficace a été de tester visuellement la présence ou non d'erreurs en procédant à plusieurs tests de détection de la même couleur sur des images de coupes de couleurs différentes.

Ces tests ont permis d'identifier de manière visuelle :

Les Vrais Positifs (VP)	La couleur est présente au bon endroit.
Les Faux Positifs (FP)	La couleur est présente là où elle ne le devrait pas.
Les Faux Négatifs (FN)	La couleur est absente là où elle devrait l'être.
Les Vrais Négatifs (VN)	La couleur est absente au bon endroit.

**Figure 21 : Tableau exposant les différentes possibilités de détection des couleurs**

Ce procédé de validation peut paraître quelque peu arbitraire, il a cependant permis d'obtenir des résultats satisfaisants qui seront détaillés par la suite. Cela a également participé à servir de preuve pour démontrer que la méthode utilisée pour cette détection automatisée des couleurs est la bonne.

### 4.2.4 Découpage de l'image

Une dernière fonctionnalité importante à développer d'après le cahier des charges a été la possibilité de découper l'image d'origine dans le but de ne garder que la zone d'intérêt. En effet, dans une observation microscopique, il est rare que toutes les zones de l'image soient importantes à analyser. La nécessité de pouvoir recadrer l'image pour enlever les composantes non utiles a donc été un dernier enjeu majeur du développement des fonctionnalités du projet.

#### 4.2.4.1 Approches du problème

Deux approches du problème ont ainsi été identifiées pour permettre une sélection simple des zones à analyser. Une première stratégie consistait à découper l'image en un quadrillage de parties de même taille pour permettre une sélection de la zone qui correspondrait le mieux à la zone d'intérêt. Une seconde idée était de permettre de sélectionner un intervalle de valeurs consécutivement sur l'axe des abscisses et des ordonnées pour réaliser une sélection précise de la zone.

#### 4.2.4.2 Choix réalisés

Comme il a été expliqué précédemment, le traitement et l'analyse d'images est une discipline qui nécessite d'optimiser au maximum la précision et la qualité des paramètres pour obtenir un résultat le plus satisfaisant possible. Ainsi, dans ce souci d'exactitude, il a été décidé de réaliser une fonctionnalité de découpage des images basé sur la seconde stratégie anticipée.

Ainsi, le principe est de prendre la mesure du nombre de pixels que contient l'image dans le sens de la longueur et de la hauteur. Cela permet de réaliser un calibrage de l'image pour établir une échelle qui permet à l'utilisateur de définir un intervalle de valeurs à laquelle correspond la zone d'intérêt concernée.

### 4.3 Réalisation d'une interface

Afin de mettre en forme les différentes fonctionnalités réalisées et pour permettre à l'utilisateur d'effectuer des analyses rapidement et de manière intuitive, il a été décidé de créer une interface qui permettrait de répondre à cette nécessité. Après discussion sur la forme que devrait prendre celle-ci avec Mme El Bouz, il a semblé judicieux de réaliser une application sur internet avec l'aide de Streamlit.

#### 4.3.1 Utilisation de Streamlit

Streamlit est un framework open-source Python spécialement conçu pour le Machine Learning. Cet outil permet de réaliser des applications web qui sont spécialisées dans l'intégration de modèles d'IA et visualisation de données. Dans ce contexte, il semble très judicieux d'utiliser Streamlit. En effet, d'une part, la documentation nécessaire pour la prise en main de la plateforme est très bien détaillée et permet de réaliser une application de bonne qualité sans avoir à réaliser de travail de back-end. D'autre part, la présence de nombreux templates sont utiles pour envisager les différentes fonctionnalités à développer pour l'interface utilisateur et pour lier celles-ci avec les algorithmes de traitement d'images développés en amont.

#### 4.3.2 Fonctionnalités

Afin d'offrir à l'utilisateur une expérience satisfaisante tant dans la qualité des informations d'analyse que dans la simplicité pour évoluer dans l'application, des stratégies de fonctionnalités disponibles ont été explorées. En effet, il est important d'avoir une vision claire de ce qu'il serait nécessaire d'afficher, des paramètres pour lesquels l'utilisateur serait autorisé à modifier et de l'organisation de toutes ces informations.

Des maquettes ont été réalisées (cf. Annexe 5) pour donner un aperçu du rendu qu'il serait intéressant à créer. Celles-ci ont permis de faire une ébauche de structure de l'application. Cela a ainsi servi à établir un squelette de l'interface qui sera voué à être modifié par la suite en fonction de l'évolution de l'avancement de cette tâche.

#### 4.3.3 Choix de l'utilisateur

Au fur et à mesure du développement de l'application, les différents algorithmes de détection des formes et des images ont pu être intégrés à l'interface. Pouvoir travailler sur les réglages par l'utilisateur est devenue une nécessité. Les paramètres utiles pour le manipulateur ont été définis comme suit :

Outil de détection des cercles.	Possibilité de déterminer l'intervalle de détection des cercles entre une taille de rayon minimale et une taille maximale à titre indicatif. Ce choix sera réalisé à l'aide d'un curseur pouvant prendre en charge ces 2 paramètres.
Outil de détection des couleurs prédominantes.	Possibilité de choisir le nombre de clusters à prendre en considération dans la méthode des K-Means. Cette décision sera prise au moyen d'un curseur.
Outil de détection de couleurs spécifiques.	Mise au point d'un panneau déroulant contenant les différentes couleurs de détection disponibles pour effectuer l'analyse.
Outil de découpage de l'image pour une définition de la zone d'intérêt.	Développement de la fonctionnalité de découpage de l'image qui va contenir 2 curseurs pour les 2 axes concernés : celui des abscisses (x-scale) et celui des ordonnées (y-scale). Ces curseurs vont également prendre en charge 2 paramètres correspondant à l'intervalle de pixels que l'utilisateur veut visualiser dans ces 2 dimensions.

**Figure 22 : Tableau récapitulatif des outils pour l'utilisateur**

#### 4.3.4 Ergonomie

Dans un souci d'ergonomie et de facilité d'utilisation, il a semblé important d'ajouter certaines fonctionnalités. Celles-ci pourraient être vues comme des détails techniques. Cependant, elles prennent tout leur sens dans l'objectif de pouvoir faire fonctionner cette application dans tous les domaines utilisant ces techniques d'analyse d'images.

Un premier point important a été de développer l'application en Anglais pour aller dans une volonté de fonctionnement universel au sein de toute la sphère scientifique. Un second axe d'amélioration a été de mettre au point une section introductory pour exposer le contexte de ce projet ainsi que les différentes fonctionnalités qui sont rendues disponibles pour l'utilisateur. Troisièmement, et le plus important, la nécessité de pouvoir uploader une image sans avoir à l'inclure dans la base de données. Cet outil est très utile pour gagner en rapidité d'exécution de l'analyse et pour permettre d'accueillir un panel d'images variées. En effet, cette fonctionnalité accepte toutes les images au format PNG, JPG et JPEG et réalise exactement les mêmes analyses qu'avec les images incluses dans la base de données.

#### 4.4 Résultats obtenus

Pour une image donnée, avec les objectifs énumérés dans les parties précédentes, ci-contre les résultats. Les résultats proviennent de l'interface Streamlit réalisée.

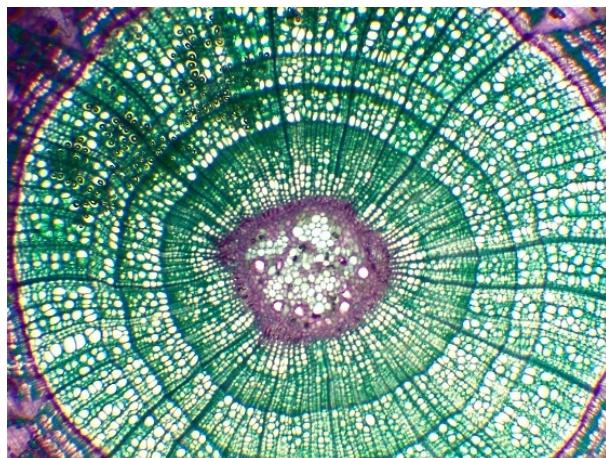


Figure 23 : Image initiale, choisie pour présenter les résultats

#### Détection et quantification de formes rondes

La détection de ronds avec l'aide d'un seuil qui détermine l'intervalle de rayon des cercles que l'utilisateur souhaite sélectionner. Cet intervalle permet de choisir librement ce qu'il souhaite isoler et ce qu'il veut quantifier. En effet, une fois l'intervalle choisi, le nombre de ronds détectés est affiché. Ici, les cellules sont détectées et quantifiées, comme demandé par le client.

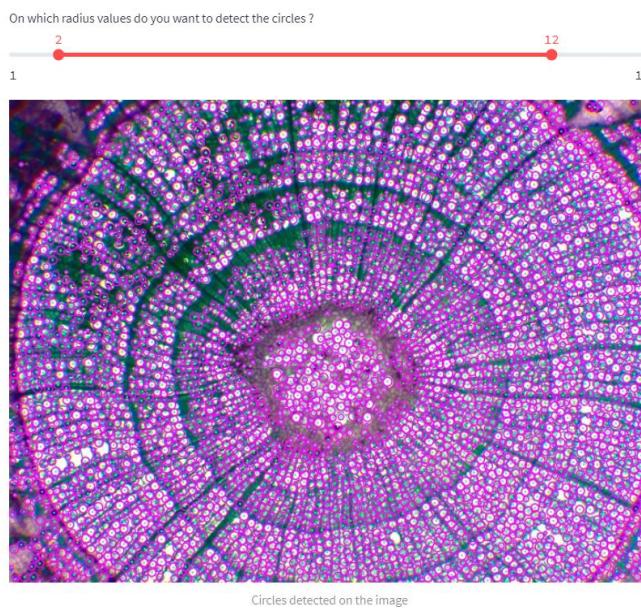
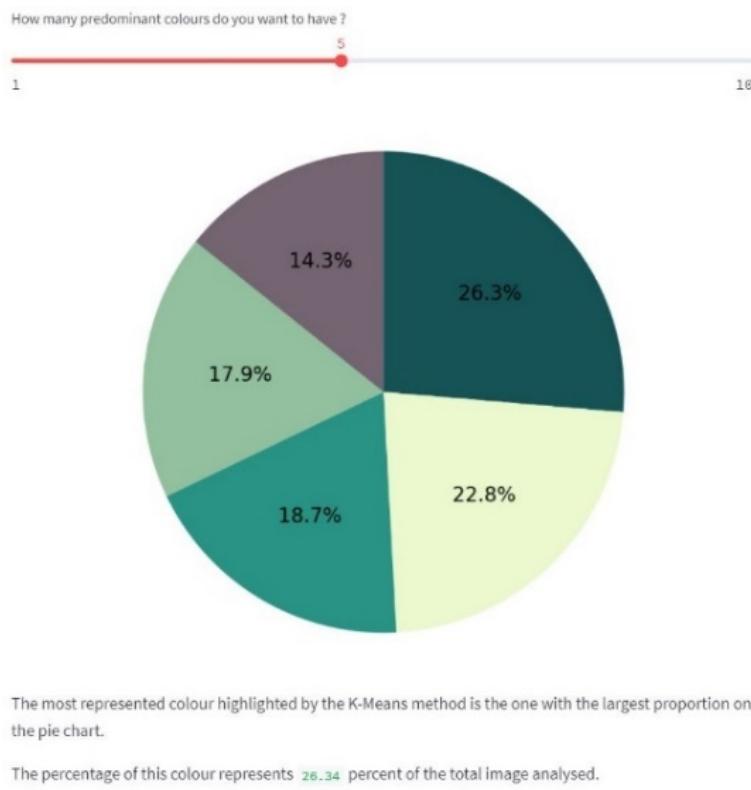


Figure 24 : Image montrant la détection et la quantification des ronds

## Pourcentages de couleurs

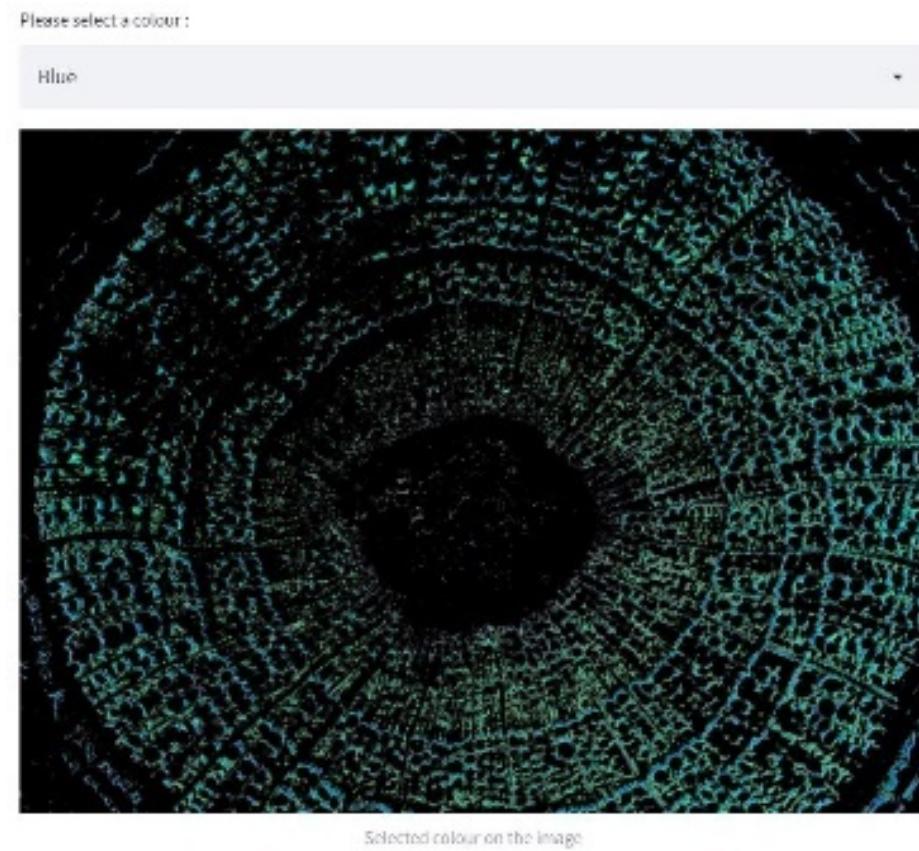
Le pourcentage de couleurs est mesuré grâce à la méthode des K-means, comme expliqué dans la partie développement technique du code. L'utilisateur peut choisir le nombre de couleurs dont il veut connaître le pourcentage de présence. Le résultat de pourcentage de la couleur prédominante est indiqué pour plus de clarté. Les couleurs prédominantes sont quantifiées, ce qui répond au cahier des charges du client.



**Figure 25 : Image montrant l'histogramme et le pourcentage des couleurs**

## Isolement d'une couleur

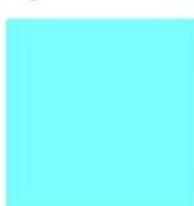
Il est possible d'isoler une couleur, si l'utilisateur souhaite quantifier le pourcentage d'une couleur spécifique (cf. Figure 26). La possibilité de choix des couleurs a été faite en fonction des couleurs qui reviennent le plus sur les coupes de végétaux. Il est donc possible d'isoler les couleurs suivantes : bleu, vert, violet, jaune, orange, rouge, blanc et marron. Afin d'être précis sur l'isolement de la couleur, il est indiqué l'intervalle pris en compte pour la couleur donnée (cf. Figure 27). Le pourcentage de la couleur sélectionnée sur l'image est également spécifié. Ici, les données sont quantifiées en fonction de critères plus spécifiques.



**Figure 26 : Image montrant l'isolement de la couleur bleue**

The colours considered are from light: (128, 255, 255) to dark: (0, 105, 128) .

Lightest colour :



Darkest colour :

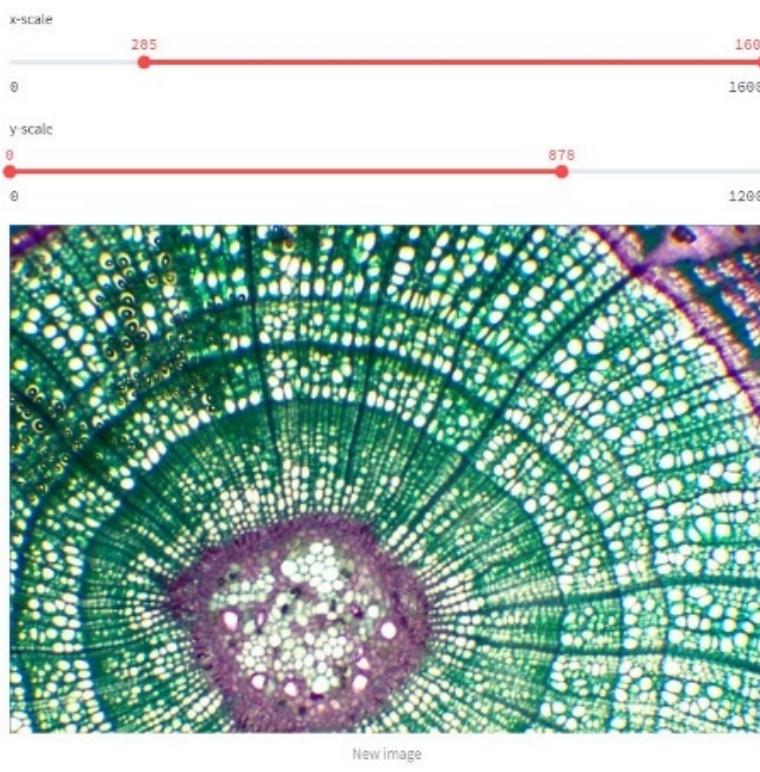


Note that in this image, the fill rate of blue occupies 17.51 percent of the image.

**Figure 27 : Image du rapport réalisé à partir de l'image obtenue**

## Découpage d'une partie de l'image

Le découpage d'une partie de l'image peut être réalisé grâce à deux curseurs. L'un sur l'axe des x (x-scale), l'autre sur l'axe des y (y-scale). Une fois que l'utilisateur a choisi la partie de l'image qu'il veut, il peut valider cette nouvelle image (cf. Figure 28). Celle-ci est alors enregistrée sous le nom de "cropped\_image". Il est ensuite possible de la sélectionner et de lui appliquer les fonctionnalités présentées ci-dessus.



**Figure 28 : Image d'une partie de l'image initiale sélectionnée grâce aux curseurs**

## Conclusion

Les résultats sont cohérents par rapport à ce qu'il est possible de voir à l'œil nu et ils sont plus précis. Le cahier des charges établi avec le client est donc respecté. L'interface quantifie bien de manière automatique des éléments physico-chimiques de coupes d'échantillons de végétaux.

Comme expliqué précédemment dans l'état de l'art, le projet se recoupe avec celui sur la détection hyperspectrale de biofilm avec Mme El Bouz comme référente.

En effet, la détection de couleurs et de formes permet de servir de véritable terrain au projet concerné. Cela permet de corroborer les résultats d'imagerie hyperspectrale de l'évolution de formation de biofilm avec les résultats de prédominance de couleurs et formes observables sur une lame de biofilm au microscope optique. Les résultats corroborent, ce qui montre une bonne adaptabilité de notre interface.

## 5- CONCLUSION

Pour conclure la rédaction de ce rapport, un travail d'introspection semble important à réaliser pour se rendre compte de ce qu'a apporté la réalisation d'un tel projet. En effet, pendant ces 7 semaines de travail, un effort de discipline et de rigueur a été nécessaire pour mener à bien cette expérience extrêmement formatrice. Les compétences engrangées en matière de documentation, de programmation et de gestion de projet permettent ainsi d'aborder en toute sérénité les prochaines échéances à venir. L'écriture de ce rapport permet également de mettre en valeur l'esprit de synthèse que demande le travail d'ingénieur.

La mise en œuvre de ce projet sous la tutelle de Mme El Bouz a ainsi permis de réaliser une application fonctionnelle permettant l'analyse automatisée de coupes fines d'échantillons d'objets pour la quantification des paramètres physico-chimiques. A la lumière des résultats obtenus, il apparaît réaliste d'affirmer que le rendu final est une réussite. Tant dans la mise au point de l'interface que dans le développement des algorithmes de détection des formes et des couleurs. Les nombreuses analyses réalisées sur des objets d'études variés a permis de mettre en évidence que le système ainsi développé pouvait être fonctionnel sur bien plus que des échantillons de cellules végétales comme les algues.

Cette hypothèse a été émise lors de l'analyse de lames de biofilm réalisées pour un autre projet (cf. Annexe 7). Effectivement, si l'évaluation des caractéristiques en matière de formes et de couleurs offre des résultats satisfaisants dans le cas d'échantillons pratiquement invisibles à l'œil nu, il peut paraître probable que les sujets d'analyse puissent être étendus à d'autres domaines de spécialité. Les sciences de la vie animale, la microbiologie ou encore la géologie sont des disciplines qui pourraient être demandeuses de ce type d'expertise automatisée fournissant des résultats objectifs et toujours basés sur les mêmes critères de reconnaissance.

Cependant, il sera nécessaire d'améliorer davantage les outils de détection afin d'obtenir une précision accrue et ainsi permettre d'obtenir un système relativement infaillible en limitant au maximum la probabilité d'erreur. De nouvelles fonctionnalités de détection pourront également être développées afin de rendre les techniques de traitement d'images toujours plus puissantes et efficaces.

Ainsi, le travail réalisé pendant ce projet a permis de démontrer l'efficacité des processus d'automatisation de l'analyse d'images mais celui-ci n'est qu'une petite partie du champ des possibles dans ce domaine. Il pourrait servir de point d'appui dans l'optique de la reprise de ces travaux dans le futur.

## BIBLIOGRAPHIE

### Documentation sur les échantillons à analyser :

Précis de botanique tome 1, Grassé & al édition Masson

Atlas de phylogénie, édition Dunod, D. Richard, R. Nattier, G. Richard, T. Soubaya

« Algues Vertes Au Microscope Banque d'image et photos - Alamy »,  
[www.alamyimages.fr](http://www.alamyimages.fr)

« Du vert à l'orange, d'où provient la diversité de couleurs des algues bleues »,  
<https://www.cnrs.fr/fr/du-vert-lorange-dou-provient-la-diversite-de-couleurs-des-algues-bleues>

« Réalisation d'une coupe végétale »,  
<https://disciplines.ac-toulouse.fr/svt/fiches-techniques/4>.

### Traitement d'images :

Documentation OpenCV : <https://docs.opencv.org/4.x/>

Documentation Matplotlib : <https://matplotlib.org/>

Documentation Sklearn : <https://scikit-learn.org/>

Filtre Canny : [https://fr.wikipedia.org/wiki/Filtre\\_de\\_Canny](https://fr.wikipedia.org/wiki/Filtre_de_Canny)

Masquage : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Masquage>

Niveau de Gris : [https://fr.wikipedia.org/wiki/Niveau\\_de\\_gris](https://fr.wikipedia.org/wiki/Niveau_de_gris)

### Interface :

Documentation Streamlit : <https://docs.streamlit.io/>

## ANNEXES

### Annexe 1 : Compte rendu de réunion

Date/heure	Mardi 08/03/2022 14h
Personnes présentes	Marwa EL BOUZ Nathan POULIQUEN Emma LUCAS
Objectifs de la réunion	Montrer notre avancement sur l'interface, être sûr que les objectifs ont bien été saisis.  Voir si d'autres idées sont envisageables.  Questionnement concernant la division de l'image, avons-nous choisi la bonne technique (choix pour diviser l'image en 4, 6 ou 9, à l'aide d'une formule mathématique)
Remarques	Bonne base d'interface.  Ajuster mieux les seuils, afin que la détection de couleur puisse se faire sur n'importe quelle image.  Pour la division de l'image, il est plus judicieux d'utiliser des curseurs, 4 précisément, x1, y1, x2 et y2. Comme ça l'utilisateur choisi de manière précise la zone qu'il souhaite analyser
Résumé	Ensemble positif. Améliorer notre fonctionnalité couleur et utiliser une fonction pragmatique pour découper une image.  Revenir vers Mme EL BOUZ, si le découpage de l'image nous pose des difficultés. Reprendre un rendez-vous dans les semaines à venir, pour montrer l'avancée de l'interface.

**Annexe 2 : Fiche de suivi journalière**

Jeudi 10/03/2022, 9h-12h

1	La détection des ronds sur les images à partir du rayon des cercles n'est pas parfaite, les paramètres sont encore en cours d'amélioration.
2	La détection des 6 différentes couleurs : rouge, bleu, vert, jaune-orangé, violet et blanc est à revoir. Les filtres ne marchent pas bien.
3	Nous nous sommes rendu compte qu'il fallait que les images aient toutes le même format pour leur appliquer un seuil de détection des cercles fonctionnant peu importe l'image choisie. Il est donc important que l'on arrive à formater dans notre programme une taille prédéfinie des images uploadées par l'utilisateur.
4	Nous allons également nous pencher sur le découpage de l'image à partir des bases de codes que Marwa EB nous a fait suivre. Nous étions partis sur une tout autre technique, mais celle que Marwa EB nous a proposé d'appliquer paraît plus simple pour l'utilisateur

### Annexe 3 : Protocole pour la réalisation de coupes d'algues

#### Protocole expérimental pour la réalisation de coupes d'algues et observation en microscopie optique

##### Introduction :

Les algues forment un puissant écosystème au sein des océans. En effet, 50% de l'oxygène produit par photosynthèse provient de ces régions. Il existe en outre une très grande diversité d'espèces qui font la richesse du littoral breton. Le maintien de l'équilibre de ces différentes populations est un enjeu majeur pour la biodiversité mais aussi pour lutter contre le dérèglement climatique et les risques de pollution de l'environnement.

Assurer le contrôle de cet équilibre est une problématique fondamentale de notre époque et c'est ainsi que nous concentrons notre travail sur l'étude de ces espèces végétales. Pour faciliter le travail des scientifiques et afin de rendre plus rapide le travail de recensement des populations, nous avons pour objectif de réaliser un programme d'analyse automatisée de coupes fines.

##### Matériel et méthodes :

Différentes espèces d'algues seront recueillies lors d'une sortie en bord de mer. Les critères de choix seront essentiellement basés sur la couleur et la forme de celles-ci. L'objectif sera de prélever un maximum d'algues avec des caractéristiques différentes pour pouvoir perfectionner notre algorithme de recherche par la suite. La collecte sera cependant restreinte à une quantité la plus faible possible pour ne pas altérer l'écosystème étudié. Les échantillons seront maintenus dans un milieu humide et salé à base d'eau de mer pour maintenir leurs caractéristiques physico-chimiques tout le long de leur acheminement vers le laboratoire.

La réalisation des coupes transversales se fera à l'aide de 2 morceaux de polystyrène qui serviront à maintenir l'échantillon immobile avant de procéder à la coupe avec une lame de rasoir. L'objectif est de faire plusieurs coupes les plus fines possibles pour obtenir un rendu le plus net possible. Les coupes seront ensuite montées sur une lame avec une goutte d'eau et une lamelle délicatement déposée par-dessus en prenant soin de ne pas laisser de bulles d'air. La réalisation de coupes longitudinale se fera de la même manière en prenant soin de faire des coupes les plus fines possibles.

L'observation des coupes au microscope optique pourra alors être réalisée afin de capturer des images à l'aide du logiciel Leica LAS EZ.

##### Ce que l'on souhaite obtenir :

L'objectif final de l'élaboration de ces coupes et de leur observation est d'obtenir des images de qualité suffisante pour pouvoir l'analyser de manière automatique grâce à un programme de traitement d'images élaboré par nos soins. Celui-ci devrait permettre de donner une réponse avec un certain degré de certitude sur le type d'algue ainsi analysé. La visualisation du spectre d'absorption d'ondes devrait pouvoir donner une idée des différents pigments présents sur l'échantillon et ainsi pouvoir donner une conclusion parmi 4 grands groupes d'algues : algues vertes, algues rouges, algues brunes ou cyanobactéries.

## **Annexe 4 : Procédure pour l'étalonnage du microscope et l'acquisition**

## Procédure pour étalonner le microscope dans le logiciel LAS EZ

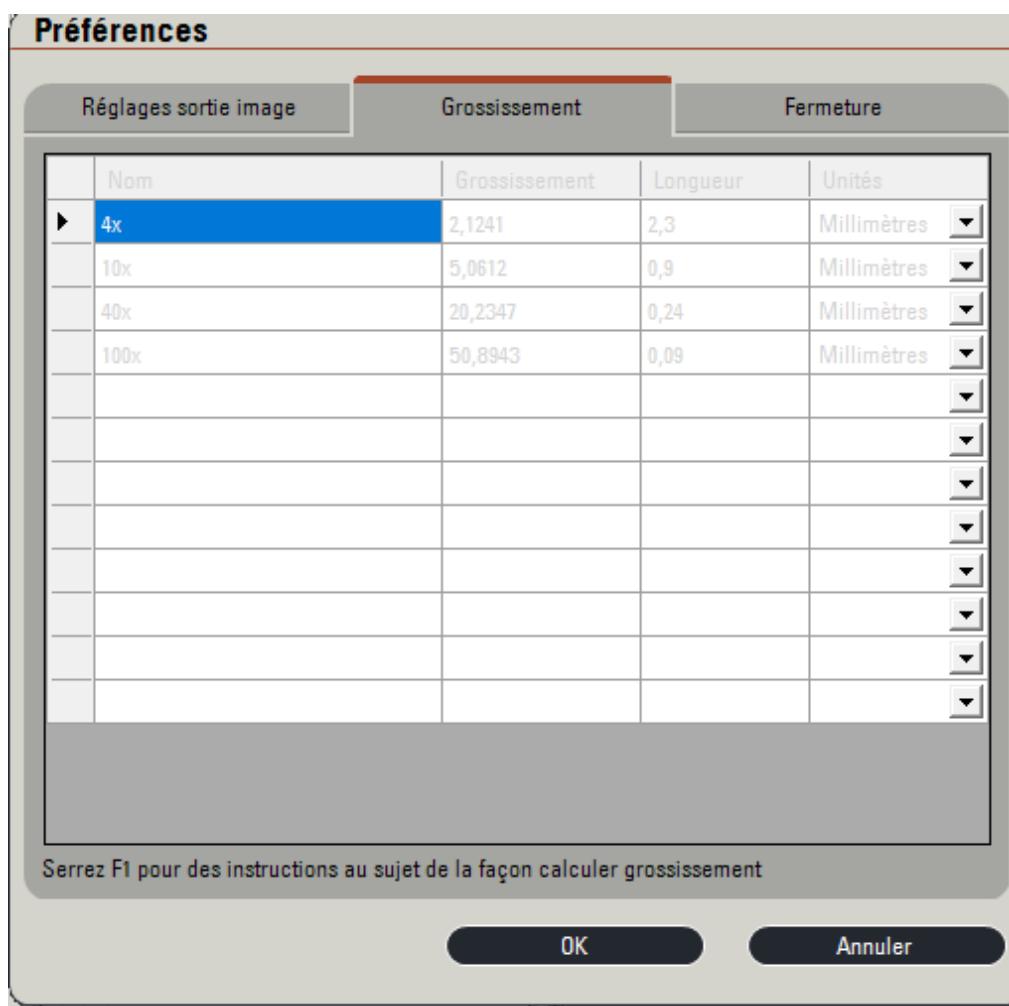
**Installer le logiciel LAS EZ grâce au lien suivant :** <https://www.leica-microsystems.com/fr/produits/logiciel-du-microscope/informations-detaillées/leica-las-ez/downloads/>

Se procurer la lame micrométrique : attention elle est fragile ! Vous remarquerez que sur cette lame, il y a 2 types de graduations : 1DIV = 0.1 mm et 1 DIV = 0.01 mm

On privilégiera pour les objectifs 4X et 10X la graduation 1DIV = 0.1 mm et pour les objectifs 40X et 100X la graduation 1 DIV = 0.01 mm

- 1- Installer le logiciel LAS EZ
  - 2- Brancher le microscope à l'ordinateur grâce au câble USB
  - 3- Allumer la caméra du microscope
  - 4- Lorsque la caméra est connectée, le mode « acquérir » est fonctionnel

La calibration a été réalisée préalablement grâce à une lame micrométrique. Tout d'abord, bien vérifier dans « option » puis « préférences » puis « grossissement » que les valeurs suivantes sont bien indiquées. Si ce n'est pas le cas, rentrer les valeurs manuellement ce qui vous évitera d'étalonner à nouveau avec la lame pour chaque grossissement.



La manipulation utilisée pour la calibration est la suivante :

- 1- Prendre la lame micrométrique et se positionner sur l'objectif 4X (bague rouge)
- 2- Cliquer sur « acquisition image » dans le mode « acquérir »
- 3- Compter le nombre de trait visible sur l'écran de l'ordinateur (lame micrométrique : 1 DIV = 0.1 mm)
- 4- Pour l'objectif 4X : 23 divisions soit  $23 \times 0.1 = 2.3$  mm
- 5- Aller dans « option », « paramètres » puis « grossissement » puis double-cliquer sur la case « longueur » puis indiquer dans la case « longueur » 2.3 mm (attention à bien sélectionner la bonne unité dans la dernière colonne)
- 6- Valider en cliquant sur « ok »
- 7- Se positionner sur l'objectif 10X
- 8- Cliquer sur « acquisition image » dans le mode « acquérir »
- 9- Compter le nombre de trait visible sur l'écran de l'ordinateur (1 DIV = 0.1 mm)
- 10- Pour l'objectif 10X : 9 divisions soit  $9 \times 0.1 = 0.9$  mm
- 11- Aller dans « option », « paramètres » puis « grossissement » et indiquer dans la colonne « longueur » 2.3 mm (attention à bien sélectionner la bonne unité dans la dernière colonne)
- 12- Valider en cliquant sur « ok »
- 13- Faire la même chose pour les objectifs 40X et 100X mais attention à utiliser l'autre graduation de la lame micrométrique (1 DIV = 0.01 mm)
- 14- Une fois terminé, cliquer sur « ok »  
Prendre une lame dont on souhaite connaître la taille d'un objet, se positionner par exemple sur l'objectif 4X. Maintenant que la calibration est réalisée, il suffit :

- 1- Dans le mode « acquérir », cocher la case « calibrer »
- 2- Toujours dans le mode « acquérir », cliquer sur « acquisition image » en bas à droite (si la case « calibrer » est bien sélectionnée, on vous demandera à cette étape le grossissement utilisé)
- 3- Dans le mode « traiter », cocher la case « afficher » dans Echelle
- 4- Dans le mode « traiter », cocher la case « fusionner » dans Action
- 5- Enregistrer l'image

## Annexe 5 : Maquettage de l'interface

*page 1*

NOT OK

OK

choix 1

Téléchargement img

Img pré enregistrée

Retour

Onglet contact

Img pré enregistrée

Img 1

Img 2

Téléchargement img

Affiche img

INTRO (quand image pas sélectionnée)

Image sélectionnée

ANALYSE FORME/TAILLE

Explication comment fonctionne cette rubrique / comment utiliser la jauge

Image de ronds/ donne échelle pour seuil

L'image est composée de X cellules, de Y taille (en fonction du seuil)

Téléchargement (du résultat)

NOT OK

OK

choix 1

Pourcentage de couleur

Rouge  
Vert  
Jaune-orange  
Bleu

Vous avez sélectionné la couleur rouge

Image avec que les parties rouges ( fond noir car filtres appliqués )

Il y a X% de rouge sur l'image

Téléchargement (du résultat)

*page 2*

NOT OK

OK

choix 1

Téléchargement img

Img pré enregistrée

Retour

Onglet contact

Img pré enregistrée

Img 1

Img 2

Téléchargement img

Affiche img

SÉLECTION D'UNE PARTIE DE L'IMG

Réaffichage de l'image sélectionnée

En combien voulez-vous découper votre image ?

4  
6  
9

Vous avez choisi la découpe en 6 de votre image

1	→ 2	3
4	5	6

Vous avez sélectionné la découpe n°2

puis processus de détection de formes et couleurs(cf p. 1 et 2)

couleurs

Isolation d'une couleur

Rouge  
Vert  
Jaune-orange  
Bleu

Vous avez sélectionné la couleur rouge

Image avec que les parties rouges ( fond noir car filtres appliqués )

Il y a X% de rouge sur l'image

Téléchargement (du résultat)

*à faire si méthode des cubes + simple A*

## Annexe 6 : Mode d'emploi pour le bon fonctionnement de l'interface

### Notice de mise en œuvre du programme

Pour permettre de mettre en œuvre le programme développé pendant ce projet et pour accéder à l'interface, la notice suivante permet de donner un aperçu de ce que contient le dossier de programmation. Celle-ci a également pour objectif de donner les clefs à tout utilisateur extérieur au projet pour installer et mettre en œuvre le code pour un fonctionnement optimal.

#### Composition du dossier :

Le dossier intitulé Projet M1 se compose d'un unique fichier python (automated\_analysis\_app.py) contenant la totalité des fonctions ainsi que le main. Celui-ci est commenté et permet de comprendre la stratégie du développement de l'interface et des méthodes d'analyse en profondeur. Différents dossiers sont également présents. Ceux-ci permettent de stocker les images pour les afficher ultérieurement dans l'application.

Dossier	Utilité
images	Ce dossier contient les images qui seront stockées dans la base de données ainsi que l'image découpée potentielle.
information	Ce dossier contient les images pour la partie introductory de l'interface avec les exemples.
colour	Ce dossier va contenir le résultat des manipulations concernant les couleurs.
shape	Ce dossier va contenir le résultat des manipulations concernant les formes.
upload	Ce dossier contient l'image pour une potentielle analyse à partir d'une image extérieure.

#### Modules à installer :

Pour assurer le bon fonctionnement du programme lors de son exécution, il est nécessaire d'installer plusieurs librairies au préalable. En effet, certaines bibliothèques communes devraient déjà être installées sur un environnement fonctionnant sous une version de Python : python 3.9. Cependant, l'installation d'autres librairies sont nécessaires comme OpenCV, Sklearn, Matplotlib et Streamlit.

#### Opération pour lancer Streamlit :

Pour lancer l'application, il est nécessaire de s'assurer que tous les modules nécessaires présents dans le fichier automated\_analysis\_app.py sont installés. Il est ainsi conseillé de se référer aux imports présents en début de fichier. Ensuite, il sera possible de lancer l'exécution du programme en tapant la ligne de commande suivante dans le terminal :

```
streamlit run "/chemin vers le dossier/Projet M1/automated_analysis_app.py"
```

## Annexe 7 : Résultats obtenus sur les biofilms

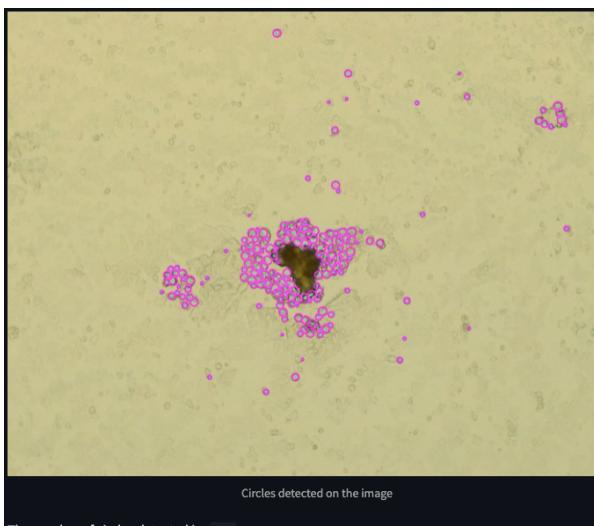


Image de biofilm datant du 25 mars 2022

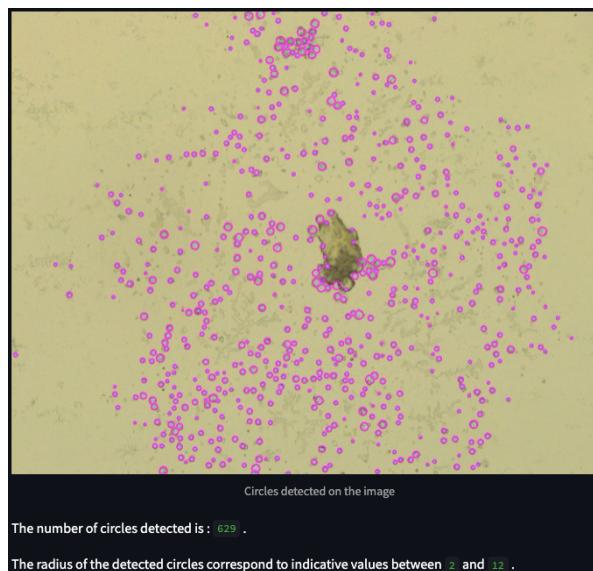


Image de biofilm datant du 21 mars 2022

Ci-dessus les résultats en lien avec le projet sur la détection de biofilm.

Il est possible d'observer une évolution du nombre de cellules au cours du temps. En effet, il a été détecté 175 cercles sur la lame datant du 25/03. Pour la lame datant du 21/03, il a en revanche été détecté 629 cercles. Cela confirme donc l'évolution du développement de la population de biofilm au cours du temps. Ces résultats permettent de servir de vérité terrain pour le groupe ayant étudié ces lames avec les techniques hyperspectrales.

Cette augmentation importante du nombre de cercles détecté permet en effet de corroborer les résultats obtenus par le groupe de travail en question.

En complément, la réalisation des analyses sur des couleurs spécifiques en l'occurrence la couleur jaune ont permis de vérifier le bon fonctionnement de l'application et des algorithmes créés. En effet, il est possible de délimiter la couleur jaune sur les images et ainsi d'obtenir un pourcentage de remplissage qui augmente de la même manière qu'avec la technique de détection des cercles. Ces images seront exposées à titre d'information lors des séances de démonstration et de présentation du projet.

NB : Ces résultats obtenus dans les dernières heures du projet justifient leur ajout en annexe.