



Conception d'algorithmes innovants de traitement d'images de la rétine chez l'homme

Chahira Miloudi

► To cite this version:

Chahira Miloudi. Conception d'algorithmes innovants de traitement d'images de la rétine chez l'homme. Organes des sens. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2016. Français. ⟨NNT : 2016PA066048⟩. ⟨tel-01366137⟩

HAL Id: tel-01366137

<https://theses.hal.science/tel-01366137v1>

Submitted on 14 Sep 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Université Pierre et Marie Curie

Ecole doctorale Cerveau Cognition Comportement

INSERM-DHOS CIC1423

Conception d'algorithmes innovants de traitement

d'images de la rétine chez l'homme

Par Chahira Miloudi

Thèse de doctorat de Sciences

Dirigée par Michel Paques, Isabelle Bloch et Florence Rossant

Soutenance le 18 janvier 2016

Devant le jury composé de :

Alain Gaudric (PUPH, rapporteur), Maria Trocan (HDR, rapporteur), Isabelle Audo (MCU-PH, membre du jury), Michel Paques (PUPH), Isabelle Bloch (Professeur), Florence Rossant (HDR), Laurent Mugnier (HDR), Jean-Claude Baudet (Directeur R&D Alten).

Sommaire

Remerciements	3
Résumé	5
Abstract	7
Introduction	9
1. Contextes anatomiques et technologiques.....	11
1.1 Aspects anatomiques	11
1.1.1 Anatomie de l'œil.....	11
1.1.2 Coupe histologique de la rétine	12
1.1.3 Répartition des photorécepteurs dans la rétine.....	15
1.2 Aspects technologiques	17
1.2.1 Historique : les progrès récents de l'imagerie rétinienne	17
1.2.2 Optique adaptative et prototype utilisé.....	20
1.2.3 Variabilité de l'imagerie : Importance de l'effet Stiles-Crawford	22
1.3 L'effet Stiles-Crawford.....	23
1.3.1 Historique	23
1.3.2 Propriétés optiques des photorécepteurs mises en évidence en AOSLO	24
1.3.3 Effet stiles-Crawford en imagerie plein champ.....	25
2. Résumé des méthodes utilisées pour le traitement d'images des cônes acquises par OA	29
2.1 Déconvolution d'images.....	29
2.2 Recalage d'images.....	36
2.3 Détection automatique des cônes	41
2.4 Conclusion.....	45
3. Etude et intégration de la variabilité temporelle de la réflectance des cônes dans la cartographie	47
3.1 Pré-traitement des images.....	47
3.1.1 Images moyennées	47
3.1.2 Images brutes.....	61
3.2 Etude de la variabilité temporelle de la réflectance des cônes	70
3.3 Méthode d'intégration de la variabilité temporelle de la réflectance des cônes dans la cartographie	77
3.3.1 Méthode.....	77
3.3.2 Procédure d'évaluation.....	81
3.3.3 Analyse des résultats	83
3.4 Conclusion.....	88
4. Etude de la variabilité angulaire de la réflectance des cônes et intégration dans le processus de fusion.....	89
4.1 Protocole d'acquisition et estimation de l'angle d'incidence	89
4.1.1 Procédure d'acquisition des images en OA.....	89
4.1.2 Mesure de l'angulation utilisée au moment de l'acquisition.....	90
4.2 Mise en évidence clinique d'une manifestation de l'effet Stiles-Crawford à travers les mosaïques négatives	94
4.3 Méthode d'intégration de la variabilité angulaire de la réflectance des cônes dans la cartographie	103
4.3.1 Méthodes de prétraitement et d'analyse d'images utilisées	103
4.3.2 Procédure d'évaluation.....	107
4.3.3 Analyse des résultats	109

4.4 Conclusion.....	111
Conclusions et perspectives	113
Annexe	115
Rappels sur les tests statistiques utilisés dans les chapitres 3 et 4	115
Bibliographie	129
Table des illustrations.....	138
Listes des publications et présentations	143

Remerciements

Un très grand merci à mes directeurs de thèse **Michel Paques, Isabelle Bloch** et **Florence Rossant** pour tous leurs précieux conseils durant ces trois années de thèse.

Je tiens également à remercier tous les chercheurs que j'ai rencontrés et avec qui j'ai pu collaborer : **Laurent Mugnier, Eric Chaumette, Serge Meimon, Cameron Parsa**, ainsi que **Line Azoulay**.

Un très grand merci à la société **Alten**, à **Jean Claude Baudet, Serge Krywyk, Stéphane Jeanty** pour leur suivi et leur professionnalisme ainsi qu'à toute l'équipe du plateau Recherche & Développement en particulier **Sihem Kime** et **Nicolas Soucies**.

Merci à tous les médecins des XV XX en particulier **Ieva sliesoraityte** et **Jonathan Benesty** pour leur participation aux détections manuelles des cônes.

Merci à tous les orthoptistes des XV-XX **Alexandre Leseigneur, Céline Chaumette, Serge Sancho, Mathias Chapon, Juliette, Lamine** ainsi que **Claire Franchisseur** pour son professionnalisme, et je remercie également **tous mes collègues** des XV-XX pour leur bonne humeur au quotidien.

Résumé

L'imagerie de la rétine à haute résolution offre de nouvelles perspectives pour le diagnostic des maladies de la rétine mais de nouveaux défis apparaissent comme la variabilité spatio-temporelle de la réflectance des photorécepteurs. Nous nous sommes intéressés à la variabilité de l'imagerie des cônes par optique adaptative plein champ, en postulant qu'elle résultait de l'intrication de deux facteurs : l'anisotropie des photorécepteurs (effet Stiles-Crawford) et la variabilité temporelle. Notre objectif a été d'analyser l'influence de la variabilité spatio-temporelle de la réflectance des cônes sur le comptage des cônes par imagerie à haute résolution par optique adaptative plein champ, et de proposer des méthodes pour pallier ces difficultés.

La première partie des travaux de cette thèse porte sur l'étude de la variabilité temporelle des cônes. Nous avons confirmé la présence d'un phénomène de scintillement des cônes (variabilité à haute fréquence de leur réflectance) à une fréquence au moins égale à celle de notre système d'acquisition. Nous avons proposé une procédure d'analyse d'images incluant restauration par déconvolution myope, recalage rigide, fusion d'images pour la construction de cartographies de cônes. Afin de valider cette approche, nous avons effectué un test de validation de deux méthodes de déconvolution. Nous avons évalué l'apport de chacune de ces techniques sur la détection automatique des cônes dans le cas des images brutes et des images traitées. Il en a résulté que la déconvolution myope était indispensable pour l'analyse des images brutes. Nous avons montré que dans le cas des sujets sains, la procédure de fusion d'image permet de rapprocher la mesure de la densité des cônes des références histologiques.

La variabilité angulaire de la réflectance des cônes est appelée effet Stiles-Crawford optique. Nous avons identifié une nouvelle manifestation clinique de ce phénomène, à travers une étude portant sur l'analyse d'images d'optique adaptative en périphérie de la rétine. Nous avons montré, à travers l'alternance des mosaïques positive/négative, que la réflectance des cônes peut devenir inférieure à celle des bâtonnets. La comparaison avec les données de la tomographie de cohérence optique a montré une forte corrélation de cette commutation avec la couche des segments externes des cônes. Nous avons par la suite proposé une procédure d'intégration de la variabilité spatiale pour la construction des cartographies. Cette procédure a été évaluée sur des sujets sains et pathologiques et a montré un gain significatif (en termes de dénombrement des cônes) chez les cas pathologiques.

Comme dans tout travail d'analyse d'image, les limites de notre travail concernent essentiellement celles des systèmes d'imagerie eux-mêmes. En effet, les systèmes utilisés ne permettent pas une mesure quantitative de la réflectance tissulaire, ni une mesure précise de l'angle d'incidence de la lumière par rapport à la rétine, ni une analyse de la fréquence de scintillation. Faute de temps nous n'avons pas étudié l'effet de la combinaison de la compensation temporelle et angulaire. Enfin, seul un petit nombre d'angles d'incidence ont été explorés, ne permettant pas une mesure précise de l'orientation des photorécepteurs.

Nos travaux ont essentiellement porté sur la rétine saine. Les perspectives (et le réel objectif médical) de notre approche est cependant de permettre d'améliorer le diagnostic et le suivi thérapeutique des sujets atteints de maladies de la rétine. Malgré les limites de notre travail, ces travaux permettront non seulement une meilleure analyse de la densité des photorécepteurs, mais serviront également de base à l'analyse de l'orientation des photorécepteurs. Ces résultats suggèrent des pistes nouvelles pour l'amélioration de l'information médicale qu'il est possible d'obtenir de ces systèmes, et devront donc être prises en compte par les concepteurs de systèmes d'imagerie rétinienne pour les nouvelles générations d'appareils.

Mots clés : [optique adaptative, plein champ, Stiles Crawford, photorécepteurs, cônes, bâtonnets, rétine humaine, anisotropie]

Abstract

The high-resolution retina imaging offers new perspectives for the diagnosis of retinal diseases but new challenges emerge as the spatial and temporal variability of the reflectance of the photoreceptors. In this thesis, we were interested in the variability of imaging cones by adaptive optics field, assuming it was due to the entanglement of two factors: the anisotropy of the photoreceptors (Stiles-Crawford effect) and the temporal variability. Our objective was to analyze the importance of spatial and temporal variability of the reflectance of cones in counting for adaptive optics high resolution imaging, and propose ways to overcome these difficulties.

The first part of the work of this thesis focuses on the study of the temporal variability of cones. We confirmed the presence of a scintillation phenomenon (high frequency variability in reflectance) at a frequency at least equal to that of our acquisition system. We have proposed an image analysis process including restoration by deconvolution, rigid registration, and image fusion for cone mapping. To validate this approach, we conducted a validation test for two deconvolution methods. We evaluated the contribution of each of these techniques on the automatic detection of cones in the case of raw images and processed images. The result was that the myopic deconvolution was essential for the analysis of raw images. We have shown that in the case of healthy subjects, the image fusion procedure to bring the measurement of cone density and histological references.

The angular variation of cone reflectance is called optical Stiles-Crawford effect. We have identified a new clinical manifestation of this phenomenon, through a study on the analysis of adaptive optics images periphery (current revision). We have shown, through the alternation of the positive / negative mosaics, that the reflectance of the cones may become lower than that of rods. Comparison with the data of the optical coherence tomography showed a strong correlation of the switching with the outer segments layer. We then proposed a procedure of integration of spatial variability for cone mapping. This procedure was evaluated in healthy and diseased subjects and showed a significant gain (in terms of cone enumeration) in pathological cases.

As in any image analysis work, the limits of our work mainly concern those of the imaging systems themselves. Indeed, the system that we used do not allow a quantitative measurement of the tissue reflectance, or a precise measurement of the angle of incident light relative to the retina, or an analysis of the scintillation frequency. Due to a lack of time we have not studied the effect of the combination of temporal and angular compensation. Finally, just a small number of incident angles were explored, not allowing a precise measurement of the orientation of the photoreceptors.

Our work has focused on the healthy retina. The goal (and real medical purpose) of our approach is, however, to improve the diagnosis and therapeutic monitoring of patients with retinal diseases. Despite the limitations of our work, this work will not only allow a better analysis of the density of photoreceptors, but also provide the basis for the analysis of the orientation of the photoreceptors. These findings suggest new avenues for improved medical information that can be obtained from these systems, and therefore must be taken into account by the designers of retinal imaging systems for new generations of imaging systems.

Keywords: [adaptive optics, Stiles Crawford, photoreceptors, cones, rods, human retina, anisotropy]

Introduction

La plupart des cas de perte visuelle sévère dans les pays développés sont dus à des maladies de la rétine. Ces dernières années, deux techniques d'imagerie ont révolutionné le diagnostic et donc la prise en charge de ces maladies : tout d'abord la tomographie de cohérence optique dans les années 1990 et, plus récemment, l'optique adaptative. Cette dernière technique permet d'améliorer la résolution des images du fond d'œil jusqu'à une résolution inférieure à $3\mu\text{m}$ et permet donc l'observation à l'échelle cellulaire. C'est, à l'heure actuelle, la seule technique qui permet de visualiser individuellement les neurones (en l'occurrence, les photorécepteurs) chez l'homme. En effet, l'anisotropie du tissu rétinien (c'est-à-dire la variabilité de sa réflectance en fonction de l'angle de la lumière incidente) est à la fois un facteur contraignant des technologies d'imagerie à haute résolution, et un paramètre d'intérêt médical puisqu'il peut contribuer à l'analyse des caractéristiques optiques et donc structurales, du tissu. Il est en effet possible que les lésions précoces de la rétine se traduisent par une désorganisation de son architecture, et donc de l'altération locale de la transmission de la lumière. Les outils conceptuels et informatiques tirant parti des particularités optiques de la rétine sont cependant relativement limités, ce qui tend à discréditer la validité scientifique et médicale des interprétations actuellement proposées des images pathologiques. Actuellement, aucun outil ne permet la détection et la mesure de l'anisotropie. L'amélioration de la compréhension de l'anisotropie à travers les images en optique adaptative est donc un réel enjeu médical, et même industriel dans la mesure où cela pourrait conduire les industriels à modifier les procédures d'acquisition sur l'ensemble des appareils d'imagerie de la rétine.

Le sujet de la présente thèse est donc la mise en place de méthodes spécifiques de traitement et d'analyse d'images à haute résolution de la rétine humaine, tant normale que pathologique, obtenues par optique adaptative, permettant d'obtenir des informations morphologiques et quantitatives nouvelles grâce à la prise en compte de la variabilité spatiale et temporelle de l'imagerie des photorécepteurs, en particulier une amélioration de la cartographie de densité et une analyse de l'orientation spatiale des photorécepteurs.

Dans le chapitre 1, nous présentons les contextes anatomique et technologique de notre étude. L'œil est un organe complexe qui peut être étudié avec de nombreux systèmes d'imagerie tels que l'optique adaptative ou encore la tomographie de cohérence optique (OCT). Dans le chapitre 2, nous proposons un résumé des méthodes de traitement et d'analyse d'images des photorécepteurs que nous avons utilisées pour réaliser les études décrites dans les chapitres 3 et 4. Ces études portent respectivement sur la construction de carte de photorécepteurs intégrant la variabilité temporelle (chapitre 3) et l'analyse de la variabilité angulaire de la réflectance des cônes (chapitre 4). Pour intégrer la variabilité temporelle de la réflectance des cônes, nous avons mis au point un procédé de fusion d'images (chapitre 3). Afin d'analyser l'orientation spatiale des photorécepteurs, nous avons mis au point une procédure d'acquisition particulière et une méthode d'estimation de l'orientation des photorécepteurs (chapitre 4).

1. Contextes anatomiques et technologiques

Dans ce chapitre, nous présentons les contextes anatomiques et technologiques qui permettent de mieux comprendre les enjeux de ces travaux de thèse. Dans un premier temps, nous nous intéresserons aux aspects anatomiques (section 1.1), puis technologiques (section 0), pour enfin aborder un effet optique caractéristique des cônes et observable en imagerie (section 1.3).

1.1 Aspects anatomiques

1.1.1 Anatomie de l'œil

L'œil peut être assimilé à une sphère contenant dans sa paroi intérieure un tissu photosensible qui s'appelle la rétine. La *Figure 1* illustre la structure de l'œil et les différents tissus qui le composent.

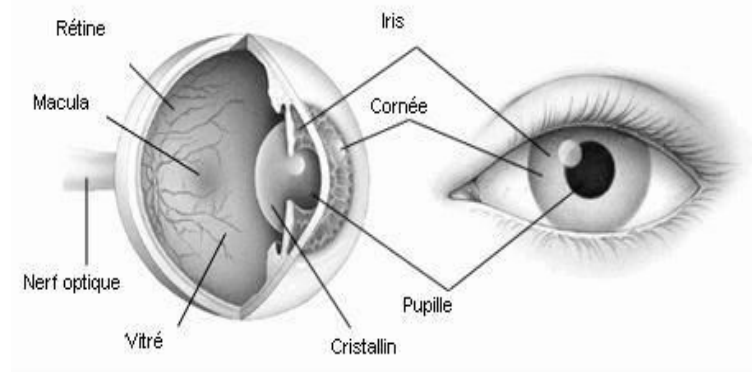


Figure 1 : Anatomie de l'œil.

L'iris est la partie colorée de l'œil. La cornée recouvre l'iris et la pupille, et forme une surface transparente. Le cristallin est une surface transparente localisée derrière l'iris. La macula est la zone qui apparaît comme une tâche jaunâtre. Elle est spécialisée dans la vision centrale, et est dépourvue de gros vaisseaux sanguins. La fovéa marque le centre de la macula. La rétine y est plus fine qu'ailleurs. Le nerf optique est constitué des axones des neurones de la rétine et quitte l'œil par l'arrière.

Chacune de ces structures a un rôle à jouer dans la formation d'une image. La cornée est le premier élément à intervenir dans ce processus car elle permet de faire converger les rayons lumineux vers un point de la rétine. Comme la lumière passe de l'air à l'humeur aqueuse, elle subit un phénomène de réfraction. La pupille permet de moduler la quantité de lumière entrante. Son action est comparable à celle du diaphragme d'un appareil photo, permettant, par la réduction de l'ouverture, d'augmenter la profondeur de champ et de percevoir plus nettement un objet lointain. Elle se dilate dans l'obscurité, et inversement se rétracte dans un environnement lumineux. Le pouvoir de réfraction de la cornée est de 42 dioptries. Le cristallin vient ajouter une capacité d'une douzaine de dioptries. L'action de certains muscles (ciliaires) peut lui conférer une forme plus ou moins bombée qui va agir sur la convergence de la lumière.

Deux mesures fondamentales sont couramment utilisées pour caractériser la fonction visuelle : le champ visuel et l'acuité visuelle. Le champ visuel définit les secteurs perceptibles en périphérie. L'acuité visuelle d'un œil est sa capacité à distinguer deux sources proches. Elle dépend de la précision de la réfraction et de la répartition des photorécepteurs dans la rétine.

1.1.2 Coupe histologique de la rétine

Une coupe histologique de la rétine est représentée dans la Figure 2.

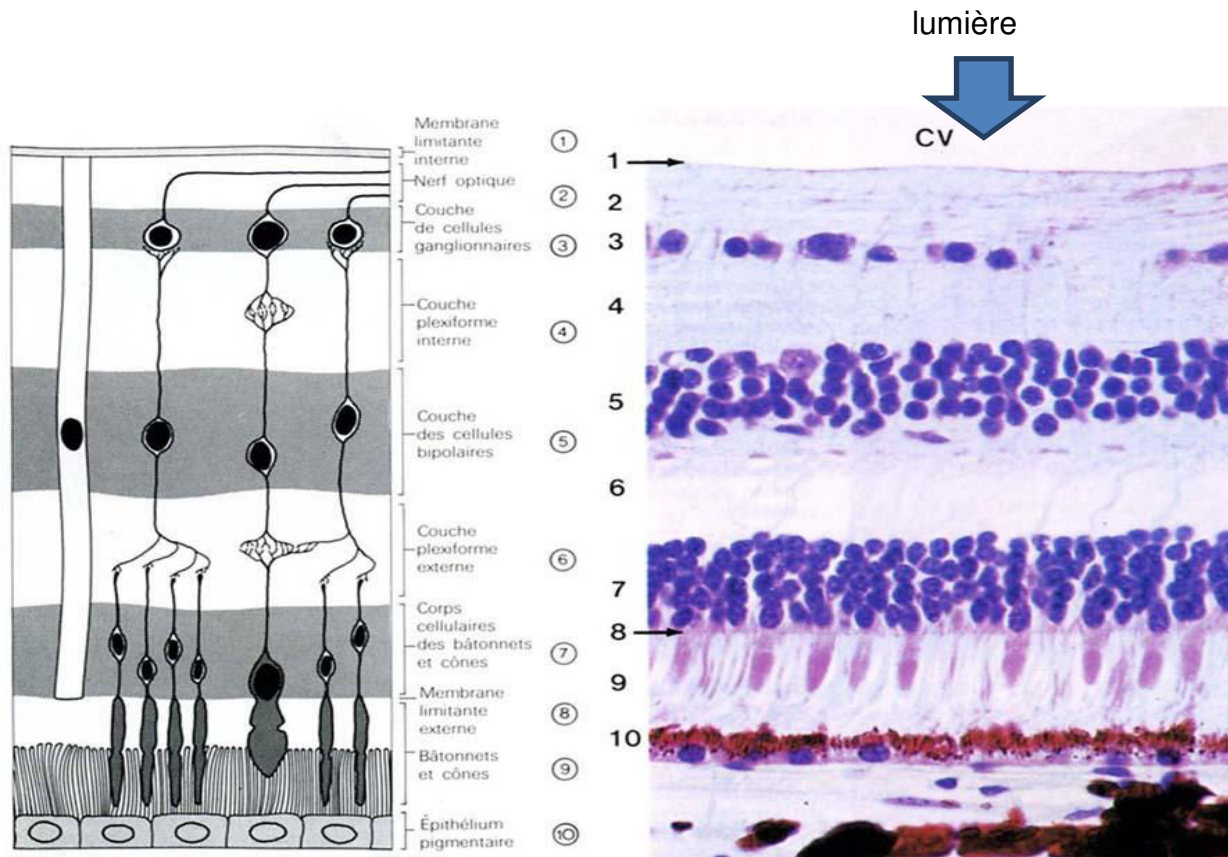


Figure 2 : Coupe histologique de la rétine. La couche des photorécepteurs (9) permet de convertir la lumière en un signal nerveux compréhensible pour le cerveau. Source : http://accs.enslyon.fr/accs/ressources/neurosciences/vision/comprendre/cas_anomalies_vision/images_ressources/Retina/view.

La rétine a une structure laminaire. Les différentes couches de la rétine sont les suivantes (*Figure 2*) :

- couche ganglionnaire : contenant les corps des cellules ganglionnaires, la transmission du message nerveux vers le cerveau se fait par l'intermédiaire des axones des cellules ganglionnaires ;
- couche plexiforme interne : contient les axones et dendrites des cellules ganglionnaires, amacrines et des neurones bipolaires ;
- couche nucléaire interne : contient les corps de neurones bipolaires, des cellules horizontales et amacrines ;
- couche plexiforme externe : contient les axones et dendrites des neurones bipolaires et des cellules horizontales et les terminaisons des photorécepteurs ;
- couche nucléaire externe : contient les corps cellulaires des photorécepteurs ;
- couche des photorécepteurs : elle comprend les couches 7, 8 et 9. Elle contient les parties photosensibles des photorécepteurs, captant la lumière et la transformant en signal biologique;
- l'épithélium pigmentaire : c'est la couche la plus externe.

La lumière traverse toutes les couches de la rétine avant d'atteindre la couche des photorécepteurs. Seuls les photorécepteurs sont sensibles à la lumière. Les autres neurones sont activés grâce à des mécanismes synaptiques. Les seules connexions de la rétine avec le cerveau se font avec les axones des cellules ganglionnaires.

Il existe deux types de photorécepteurs, les cônes et les bâtonnets. Dans la *Figure 3*, les deux types de photorécepteurs sont schématisés.

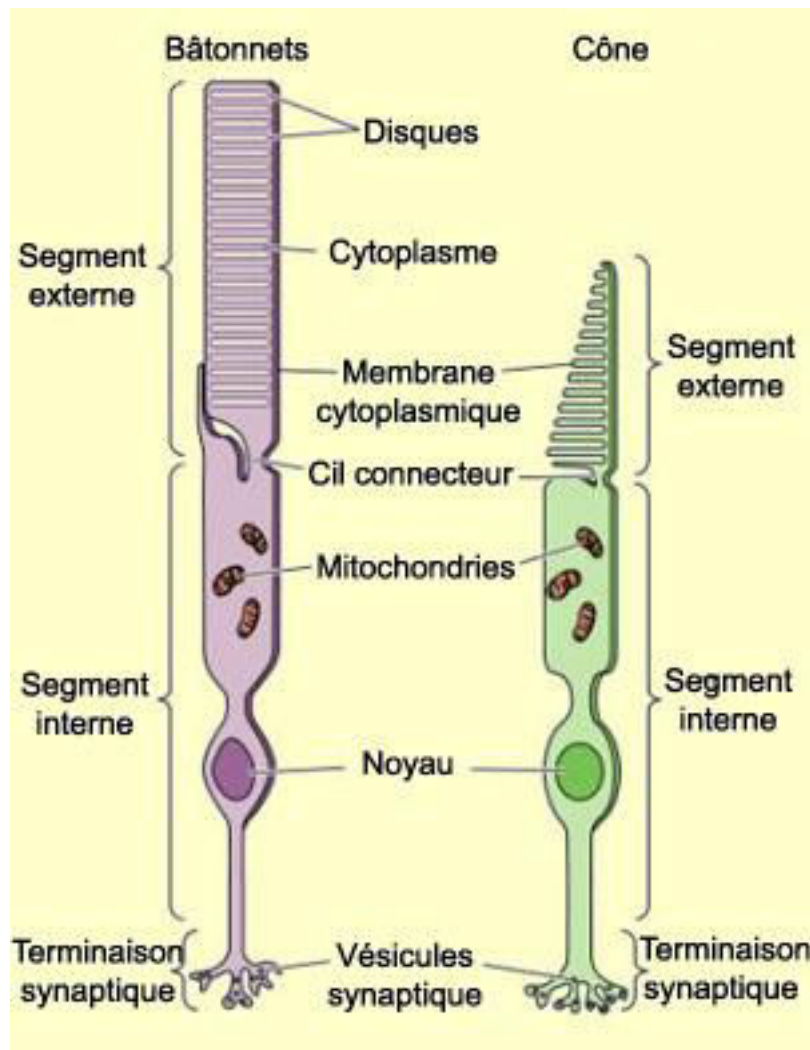


Figure 3 : Schéma simplifié des photorécepteurs. Source : http://www.ac-grenoble.fr/disciplines/svt/file/ancien_site/log/1_l/vision/1LI_chap.htm.

Un photorécepteur contient quatre parties : un segment externe, un segment interne, un noyau (corps cellulaire) et une terminaison synaptique. Le segment externe est constitué, entre autres, d'un empilement de disques qui contiennent eux même les pigments sensibles à la lumière. Ces disques réagissent à la lumière en modifiant le potentiel de membrane de la cellule. Les deux types de photorécepteurs (cône ou bâtonnet) sont distinguables par la forme de leurs segments externes. Chez l'homme, il y a vingt fois plus de bâtonnets que de cônes, et leur répartition diffère dans la rétine. En dehors de la fovéa, les cônes sont plus larges que les bâtonnets : de 3 à 5 μm pour un cône contre 2 μm environ pour un bâtonnet. Les cônes permettent la vision diurne et la vision des couleurs. Il y a trois types de cônes, sensibles à des longueurs d'onde différentes : S (pour short, anciennement appelés cônes bleus), M (pour moyenne, anciennement appelés verts) et L (longue, anciennement appelés rouges). Les trois types de cônes sont mélangés aléatoirement ; les S sont absents dans la fovéa. Les bâtonnets permettent la vision nocturne et ne sont pas présents dans la fovéa.

1.1.3 Répartition des photorécepteurs dans la rétine

La structure rétinienne est hétérogène : la périphérie contient plus de bâtonnets et moins de cônes. Au niveau de la fovéa, la population de photorécepteurs est essentiellement composée de cônes. La répartition des différents photorécepteurs en fonction de l'excentricité par rapport à la fovéa est représentée dans la *Figure 4*.

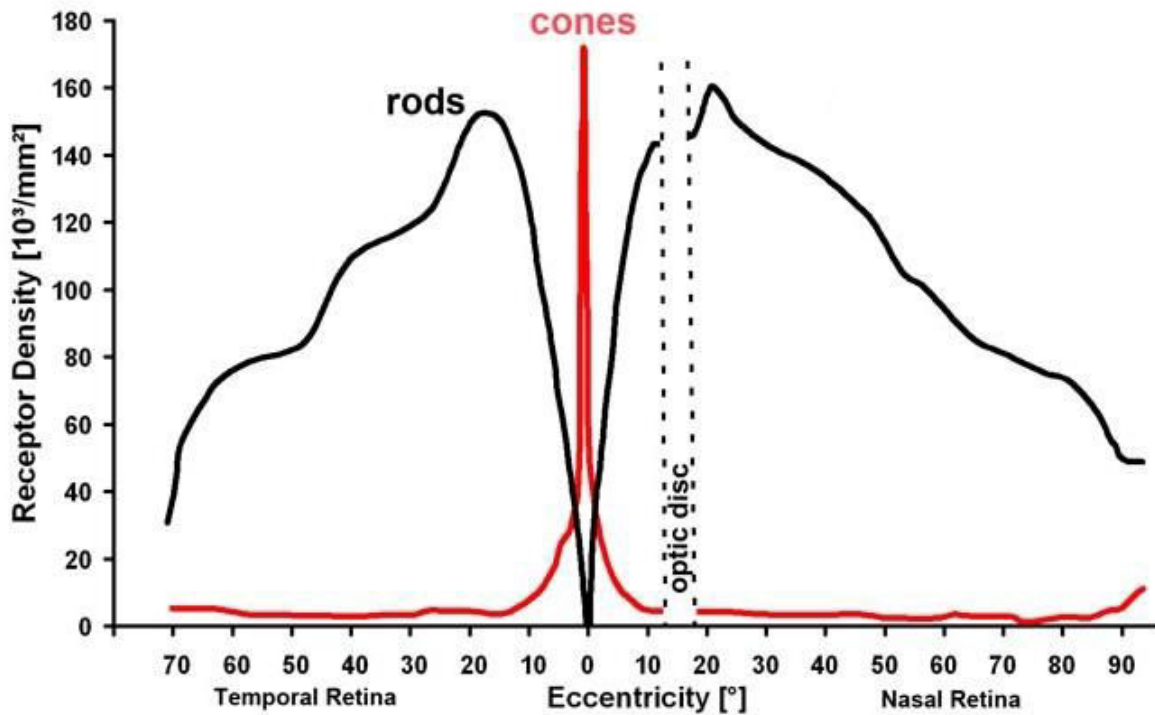


Figure 4 : Variation de la densité des photorécepteurs au niveau de la rétine [Osterberg 1935].

A 20 degrés d'excentricité, une zone dépourvue de photorécepteurs correspond à la zone « aveugle » ou papille. Elle correspond à la position du nerf optique et est caractérisée notamment par l'absence de photorécepteurs. A 0 degré d'excentricité, il y a une petite dépression peu profonde qui correspond à la fovéa. Celle-ci ne contient que des cônes et correspond à la zone de plus grande acuité visuelle. L'amincissement de la fovéa est lié à un déplacement centrifuge des cellules ganglionnaires au cours du développement fœtal (*Figure 5*). Le rôle exact de la dépression fovéolaire est incertain, car les sujets sans dépression fovéolaire (fovea plana) peuvent avoir une fonction visuelle normale.

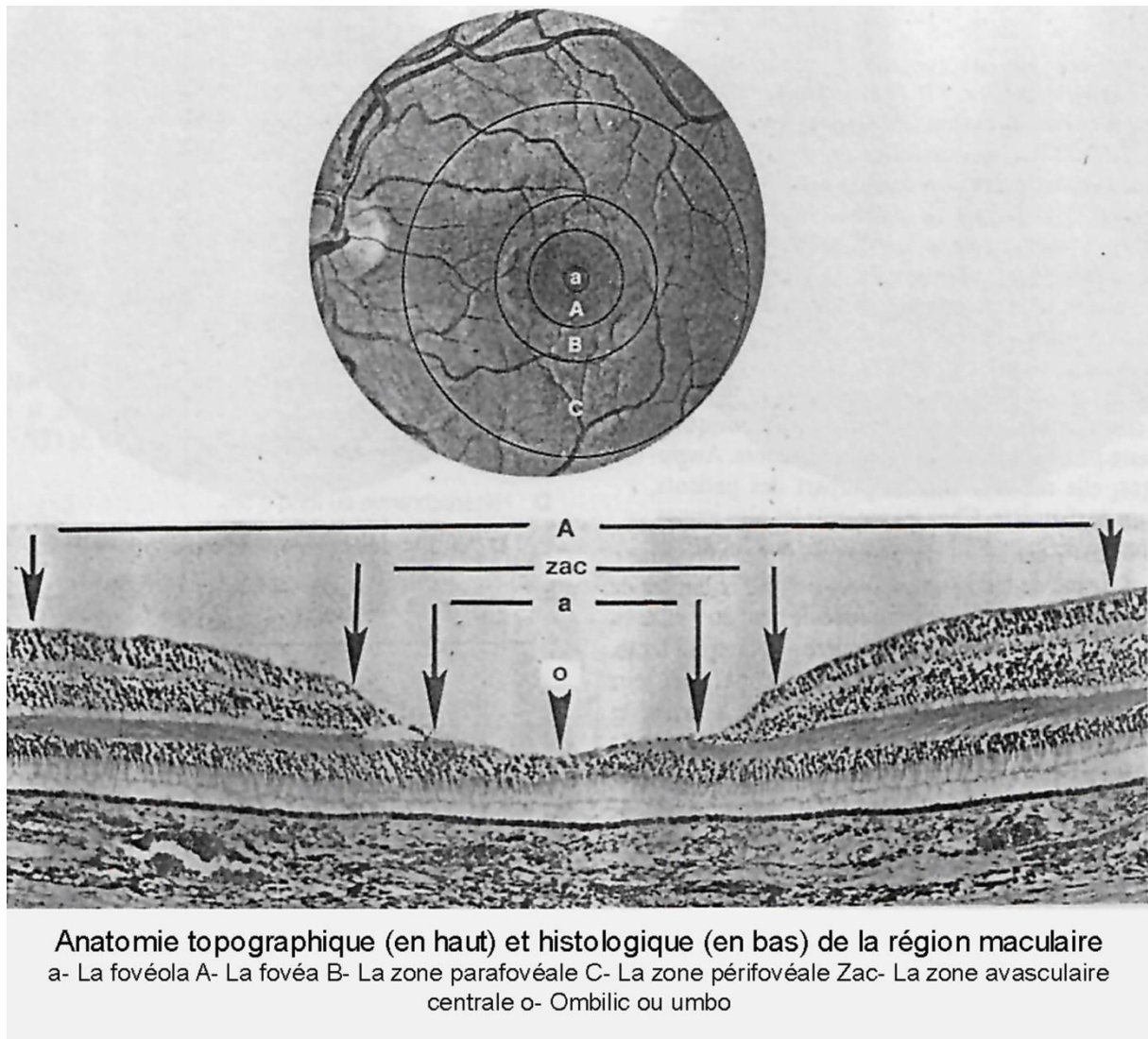


Figure 5 : Schéma de coupe de la macula où la fovéa peut être identifiée par une dépression du tissu rétinien. Source : <http://www.dematice.org/ressources/DCEM3/ophtalmologie>.

1.2 Aspects technologiques

1.2.1 Historique : les progrès récents de l'imagerie rétinienne

Il existe plusieurs modalités d'imagerie pour observer la rétine :

- Fond d'œil

L'examen du fond d'œil par photographie couleur est l'examen le plus couramment réalisé, bien qu'il tende à être détrôné par l'OCT. Le fond d'œil est un examen simple utilisé en routine pour observer la rétine et ses vaisseaux, la papille optique (zone du nerf optique), ainsi que la macula. Deux exemples d'images de fond d'œil, chez un sujet sain et dans le cas d'une dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), sont donnés en *Figure 6*.

L'ophtalmoscopie laser à balayage (scanning laser ophthalmoscope, SLO) est une autre technique d'observation du fond d'œil, par laquelle le fond d'œil est balayé par un faisceau laser à grande vitesse. Un exemple d'image du fond d'œil par SLO est donné dans la *Figure 7*.



Figure 6 : Photographies du fond d'œil chez un œil normal (a) et dans le cas d'une dégénérescence maculaire liée à l'âge (b).

Cet examen permet de dépister des inflammations, des tumeurs ou un décollement de la rétine. Il permet également d'évaluer et de suivre des atteintes vasculaires liées à certaines pathologies telles que l'hypertension artérielle et le diabète.



Figure 7 : Photographie du fond d'œil obtenue par SLO.

- Tomographie de cohérence optique (OCT)

L'OCT est une technique d'imagerie fondée sur le principe de l'interférométrie. Elle est utilisée en ophtalmologie pour visualiser les différentes couches de la rétine avec une grande précision. De nombreux progrès technologiques ont été réalisés ces dernières années, pour améliorer la résolution des images et le rapport signal sur bruit. Ainsi, l'OCT est maintenant un examen classique pour le dépistage et le suivi des maladies de la rétine comme les dégénérescences maculaires. Un exemple d'image OCT d'un œil normal est donné en *Figure 8*.

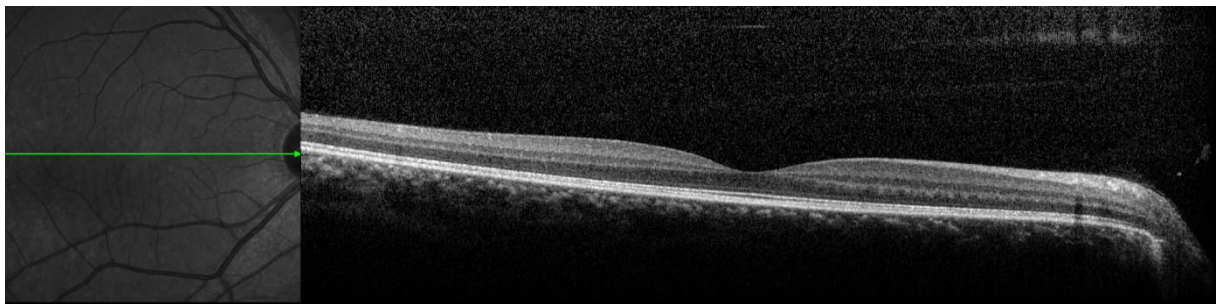


Figure 8 : Illustration d'une image OCT dans le cas d'un sujet sain.

Il est possible de segmenter les images OCT avec, par exemple, la méthode décrite dans [Ghorbel PhD 2012, Ghorbel 2011, 2015] pour distinguer les différentes couches (*Figure 9*).

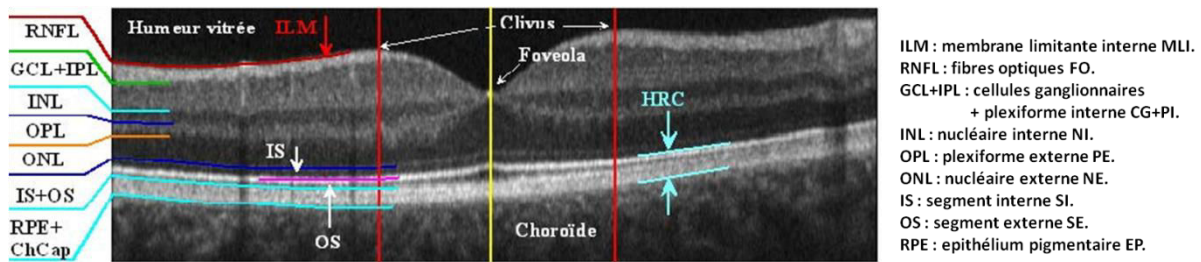


Figure 9 : Image OCT de la rétine, acquise avec l'OCT 3D 1000, Topcon (<http://www.topcon-medical.eu>), et définition des couches rétinienne. Source [Ghorbel 2009].

Les photorécepteurs (cônes et bâtonnets) sont représentés en OCT par l'ensemble des couches ONL, IS+OS d'après la Figure 9. Les mesures des épaisseurs des différentes couches sont des indicateurs de l'état de santé de la rétine. Par exemple, un amincissement de la couche des photorécepteurs peut être le résultat d'une dégénérescence de ceux-ci.

- Optique adaptative

L'optique adaptative est une technologie d'amélioration des images du fond d'œil, qui peut être utilisée pour l'imagerie en réflectance (SLO ou plein champ) ou pour l'OCT. En imagerie par réflectance, en améliorant la résolution jusqu'à moins de 3 μm , elle a permis d'observer individuellement les photorécepteurs. La Figure 10 montre un exemple d'image acquise par optique adaptative utilisant la caméra RTX1 fonctionnant en illumination plein champ. L'image présentée a une dimension de 4 degrés x 4 degrés. Cette mesure en degrés est géométriquement définie par rapport au point nodal selon le modèle de Gullstrand [<http://www.oculist.net/downaton502/prof/ebook/duanes/pages/v1/v1c033.html>]. La technique d'optique adaptative en illumination plein champ, utilisée dans le cadre de notre travail, est détaillée par la suite.

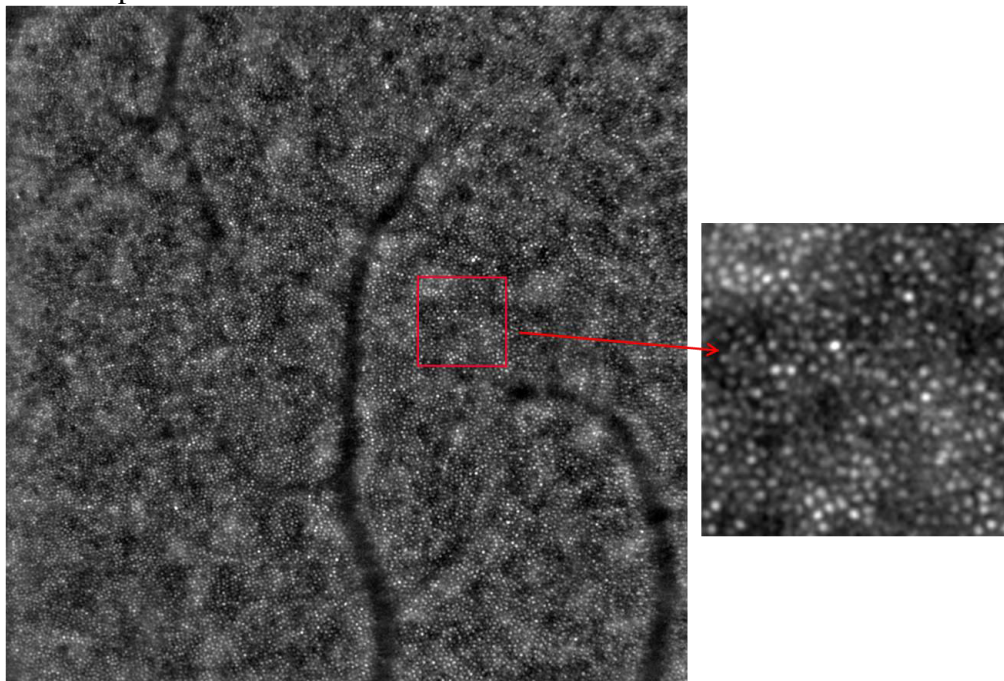


Figure 10 : Exemple d'image prise par optique adaptative en illumination plein champ (RTX1 d'Imagine Eyes, technologie FIAO : Flood Illumination Adaptive Optics en anglais) dans le cas d'un sujet sain. Image 4 degrés x 4 degrés (1200 x 1200 microns). Zoom 150 x 150 microns.

1.2.2 Optique adaptative et prototype utilisé

L'optique adaptative (OA) est une technologie qui, intégrée à un système d'imagerie, permet de corriger les aberrations liées à la traversée d'un milieu instable par la lumière incidente. Le principe de cette technologie est illustré par la *Figure 11*.

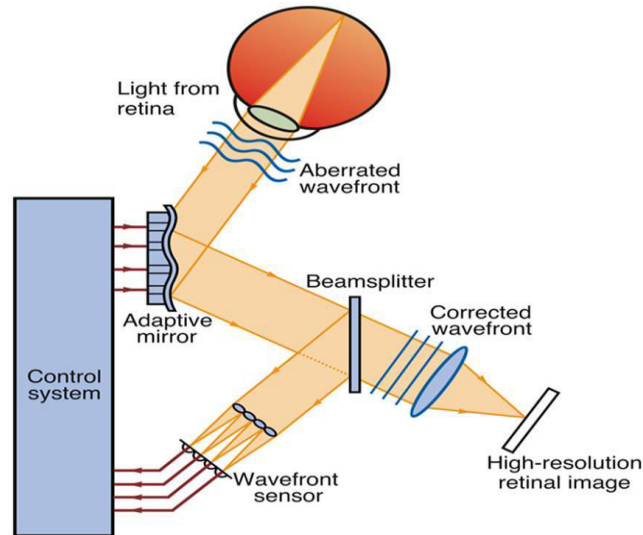


Figure 11 : Principe général de l'optique adaptative [Bierden 2006].

Lorsqu'un faisceau de lumière est appliqué sur la pupille, une partie de la lumière est réfléchiée par l'œil. Les aberrations du front d'onde sont liées à la traversée de la cornée et du cristallin. Un capteur de front d'onde (« wavefront sensor » sur la *Figure 11*) mesure les aberrations et envoie un signal au système de contrôle. Après traitement des informations, un signal est généré au niveau de l'élément correctif (miroir déformable), lequel va lisser le front d'onde. On a ainsi une boucle de rétroaction qui permet d'augmenter au fur et à mesure la résolution de l'image, jusqu'à stabilisation de la boucle. Dans le domaine de l'imagerie des photorécepteurs, l'OA a été appliquée aux caméras par illumination plein champ et par laser à balayage (scanning laser).

Il existe deux types de prototypes en OA permettant d'imager les photorécepteurs que l'on peut distinguer par le type d'illumination utilisé : plein champ ou scanner laser.

- Illumination plein champ

La caméra que nous utilisons est la caméra RTX1 [Viard 2011] de la société Imagine Eyes. Le RTX1 est un dispositif homologué pour la recherche. C'est un dispositif d'imagerie sans contact, utilisant une lumière incohérente en illumination plein champ avec une longueur d'onde de 850 nm. Les aberrations du front d'onde oculaire sont analysées par un aberromètre intégré, avec un capteur de type Shack-Hartmann (« wavefront sensor » sur la *Figure 11*). Ce dernier se présente comme une matrice de micro-lentilles. Il s'agit d'un analyseur de front d'onde, c'est-à-dire qu'il permet de mesurer la déformation du front d'onde d'un faisceau optique.

Les aberrations sont corrigées en temps réel par un miroir déformable. Le champ de vision pour la formation d'image est de 4 degrés x 4 degrés, correspondant à une zone de $1,2 \times 1,2 \text{ mm}^2$ sur la surface de la rétine. Chaque acquisition dure 4 secondes. Le dispositif présente une résolution de $1,6 \mu\text{m}^2$ et une fréquence d'acquisition de 9,5 images par seconde.

Au cours d'une acquisition avec le RTX1, une série de 40 images brutes est acquise dans un premier temps (exemple d'image brute et d'image moyenne en *Figure 12*). Ces images sont recalées par le système en utilisant une méthode de corrélation croisée [Zitova 2003, Kulscar 2013] et une moyenne est calculée pour produire une image finale avec un meilleur rapport signal sur bruit. Les images brutes montrant des artefacts dus à des clignements des yeux et des saccades sont automatiquement éliminées avant le calcul de la moyenne. A des fins d'affichage, le fond de l'image résultante est soustrait à l'aide d'un filtre gaussien et l'histogramme est étiré sur une plage de niveaux de gris de 16 bits.

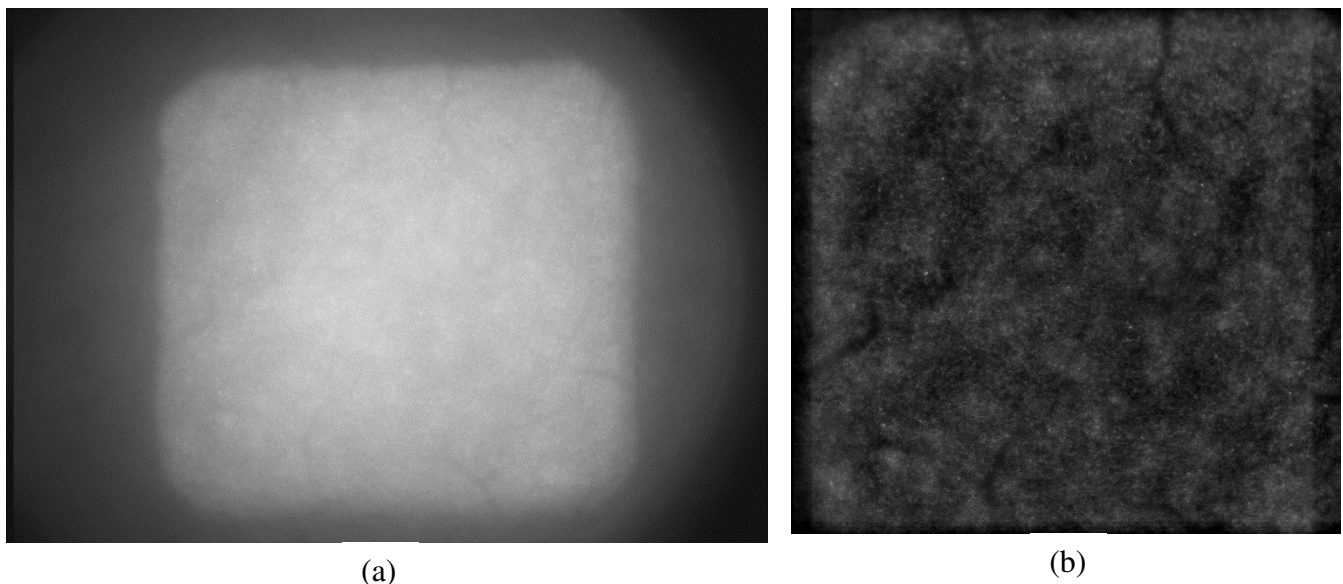


Figure 12 : (a) Exemple d'image brute ; (b) exemple d'image moyennée finale fournie par le RTX1 (technologie FIAO).

Les photorécepteurs sont visibles sur l'image sous forme de « points » blancs plus ou moins lumineux. On appellera réflectance l'intensité de ce point lumineux sur l'image.

- Scanner laser

Il existe une autre technologie qui permet d'obtenir des images de photorécepteurs par OA, il s'agit de l'AOSLO (*adaptive optics scanning laser ophthalmoscope*). La confocalité est modulable grâce à l'utilisation d'un trou sténopéique. Le scanner laser est plus sensible aux mouvements de l'œil (sensibilité variable en fonction de la vitesse de balayage). Toutefois, les résolutions demeurent similaires entre ces deux technologies. Dans la suite des travaux nous utiliserons les notations FIAO pour l'OA en illumination plein champ (Flood illumination Adaptive Optics en anglais), et AOSLO pour l'OA par scanner laser (Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscope).

1.2.3 Variabilité de l'imagerie : Importance de l'effet Stiles-Crawford

La difficulté de l'interprétation des images de photorécepteurs acquises par OA réside dans la faible reproductibilité des images au cours du temps. A cela s'ajoutent les propriétés anisotropiques des cônes de la rétine, qui se caractérisent par des images variables en fonction de l'angle du faisceau incident lors de l'acquisition (effet Stiles-Crawford). Les variations de réflectance de la mosaïque des photorécepteurs ont été mises en évidence en AOSLO [Cooper 2011], mais celles-ci peuvent également être observées en FIAO. Par exemple en FIAO, il est possible de voir ce phénomène d'anisotropie en faisant varier la position de l'angle du faisceau incident par rapport au centre de la pupille de l'œil étudié. La *Figure 13* illustre un exemple de variabilité de l'imagerie par FIAO en fonction de l'angle d'incidence utilisée au moment de l'acquisition. Il existe des variations visuelles très importantes entre les différentes images.

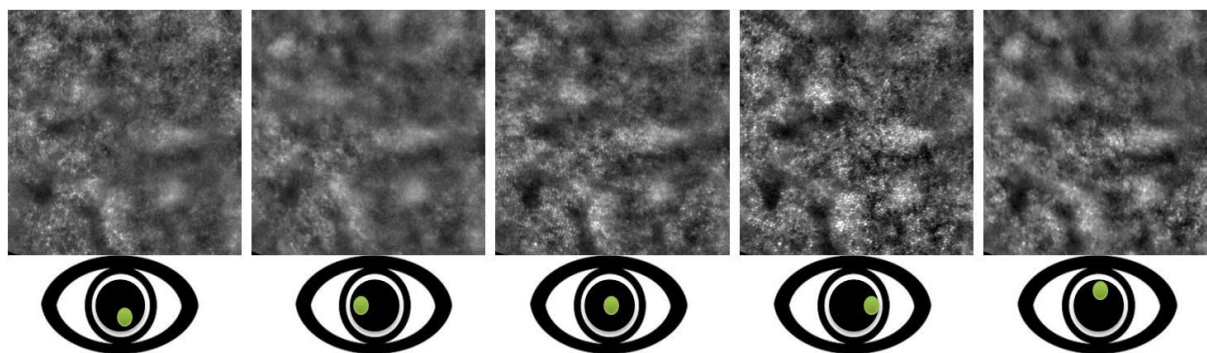


Figure 13 : Illustration de la variabilité de l'imagerie en FIAO. Images acquises avec le RTX1, taille 400 x 400 μm^2 . Les points verts correspondent aux positions des directions de visée par rapport à l'œil étudié pour chaque image.

Les cônes sont les structures les plus anisotropes de la rétine en OA. Cette anisotropie a été constatée cliniquement chez les sujets normaux. Les lésions précoces de la rétine peuvent se traduire par une désorganisation de son architecture, et donc de l'altération locale de la transmission de la lumière, avant toute manifestation visuelle.

L'anisotropie des cônes peut également être observée avec d'autres modalités d'imagerie, notamment avec l'OCT. Peu de travaux se sont intéressés à l'anisotropie des structures rétinienne par OCT. Les premiers à l'avoir décrite sont [Lujan 2011, Otani 2011] qui rapportent que la réflectance des axones des photorécepteurs (les « fibres de Henle ») ont une importante variabilité de leur réflectance. L'analyse détaillée de l'OCT permet de montrer que les photorécepteurs ont également une anisotropie décelable [Gao 2008] [Brevet Mrejen-Paques] (*Figure 14*).

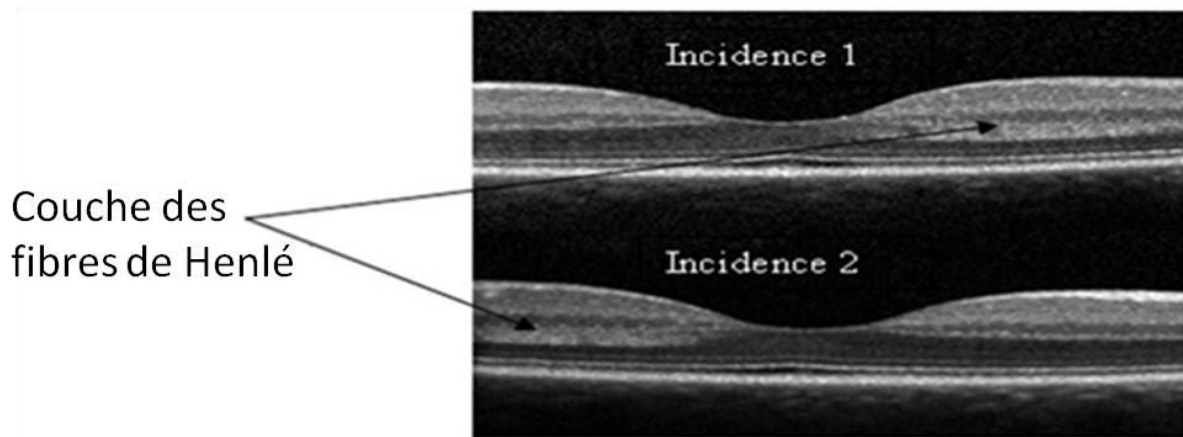


Figure 14 : Illustration de l'effet d'une variation d'angle d'incidence sur l'imagerie rétinienne par OCT. Noter la visibilité alternée (droite/gauche) de la couche des fibres de Henle.

1.3 L'effet Stiles-Crawford

1.3.1 Historique

L'anisotropie du tissu rétinien a été mise en évidence de façon globale dans la littérature avec l'effet Stiles-Crawford (SCE) [Stiles-Crawford 1933]. Il caractérise la variation angulaire de la réflexion lumineuse du fond d'œil et a pour origine la réflexion directionnelle des photorécepteurs. L'effet dépend de l'excentricité de la rétine [Westheimer 1967] et du spectre d'éclairage [Stiles 1937]. Ce phénomène est illustré en *Figure 15*. Elle montre que l'efficacité lumineuse (évaluée de façon subjective par l'éblouissement ressenti du sujet) est maximale au centre de la pupille et s'amointrie à la périphérie.

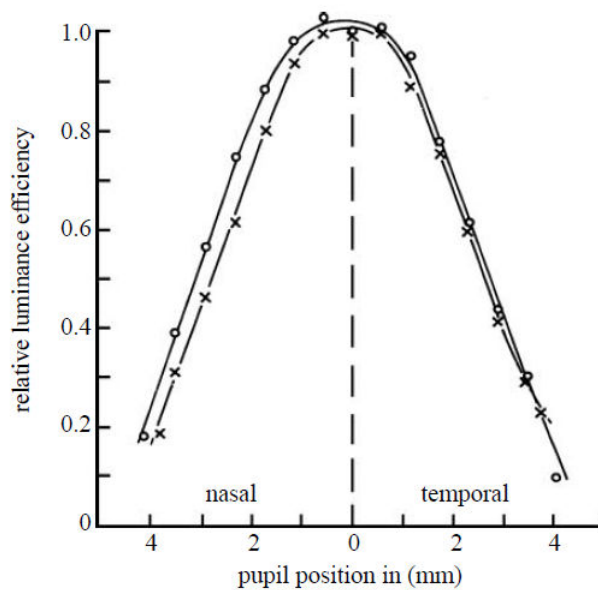


Figure 15 : Efficacité lumineuse relative pour des faisceaux étroits, comme une fonction de la position du faisceau incident par rapport à la pupille. Les données pour deux séries de mesures à trois mois d'intervalle dans l'œil gauche de S. W. Stiles [Stiles-Crawford 1933].

L'effet Stiles-Crawford en imagerie rétinienne par OA repose sur le principe que les cônes se comportent comme des « fibres optiques » : ce modèle est fondé sur l'aspect des segments externes des cônes. La probabilité de capturer des photons incidents est plus élevée si leur angle d'incidence est faible, a fortiori maximale s'ils sont parallèles à l'axe des photorécepteurs. C'est la raison pour laquelle les rayons lumineux (modélisant le trajet des photons) sont plus efficaces lorsqu'ils sont réfractés par le centre de la rétine que par sa périphérie.

1.3.2 Propriétés optiques des photorécepteurs mises en évidence en AOSLO

Dans la littérature, certaines propriétés optiques des photorécepteurs ont été mises en évidence grâce à l'AOSLO, et peuvent permettre de mieux comprendre leur fonctionnement :

- Les cônes et les bâtonnets ont des réflectances qui varient au cours du temps [Cooper 2011]. Des études antérieures [Jonnal 2007 et 2010] suggèrent que la différence de réflectivité des cônes observée en OA est due à des différences de longueur des segments externes, et que ces fluctuations ne peuvent être observées qu'avec des sources dont la longueur de cohérence est supérieure à celles des segments externes des photorécepteurs. Mais les résultats de [Cooper 2011] et [Pallicaris 2003] utilisant des sources de longueurs de cohérence deux fois plus courtes que celle du segment externe suggère que ces changements ne sont pas seulement imputables à des modifications de la longueur des segments externes, mais des modifications sub-cellulaires au niveau local et peut-être même au niveau des segments internes pourraient aussi contribuer au profil global de réflectance des photorécepteurs.

- Plus deux cônes sont éloignés, plus ils ont une différence importante de directionnalité [Roorda 2002]. Cela corrobore l'idée que l'effet Stiles-Crawford s'explique par une différence d'orientation (liée à la disposition des segments externes) des cônes situés au centre par rapport aux cônes en périphérie.
- Les photorécepteurs seraient capables de se réaligner (phototropisme) [Smallman 2001]. Les auteurs ont observé dans un cas de retrait d'une cataracte congénitale bilatérale que les photorécepteurs rétiniens peuvent rapidement se réaligner vers les régions pupillaires les plus brillantes de l'œil (déplacement du pic observée de l'effet Stiles-Crawford dix jours après extraction de la cataracte). Cela indique que l'étude de l'évolution de la disposition géométrique des cônes à travers l'effet Stiles-Crawford peut être un indicateur de l'état de santé de ces cellules, mais également une technique de suivi post-chirurgical.
- Un photorécepteur est parallèle à ses voisins et les photorécepteurs sont globalement orientés vers le centre de la pupille [Applegate 1993, Laties 1969]. L'orientation générale des cônes corrobore l'idée que la réponse des cônes sera donc directement liée à l'angle d'incidence de la lumière. En effet compte tenu d'une disposition géométrique non parallèle à l'axe optique, un cône périphérique sera donc moins sensible si on le stimule avec un faisceau incident dans la direction de l'axe optique, contrairement aux cônes centraux.

1.3.3 Effet stiles-Crawford en imagerie plein champ

La réflectance des photorécepteurs varie en fonction de l'angle utilisé au moment de l'acquisition. Un exemple de deux images prises « en face » (angle d'incidence parallèle à l'axe optique) et à « 3h », est fourni par la *Figure 16*. L'apparence des photorécepteurs change entre les deux images dans la zone encadrée à titre d'exemple.

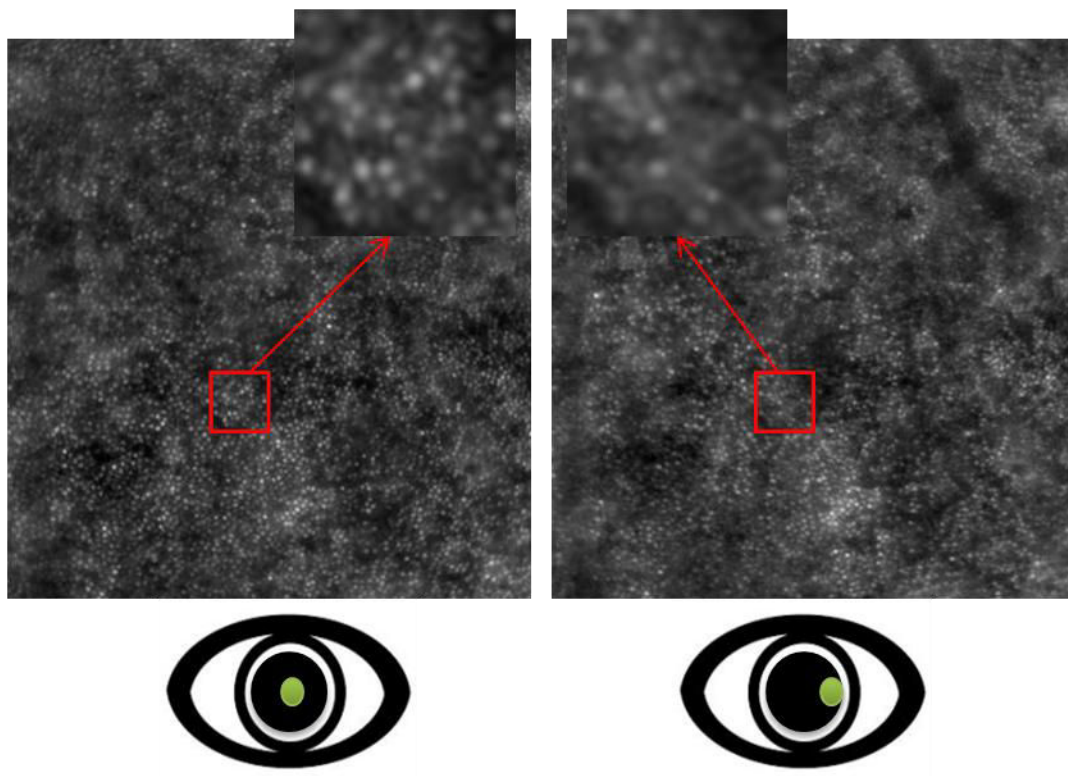


Figure 16 : Illustration de l'effet d'une variation d'angle d'incidence.

Nous avons également réalisé des acquisitions d'images en décalant la pupille d'entrée soit de façon verticale, soit de façon horizontale. On réalise ainsi un changement progressif de l'angle d'incidence de la lumière tout au long de l'acquisition des images. Chaque image correspond donc à un angle d'incidence différent. La *Figure 17* présente un exemple d'acquisition avec translation du palonnier (modélisé par la position du point vert en haut de chaque image). Il n'y a pas de cônes observables au début de la série d'images.

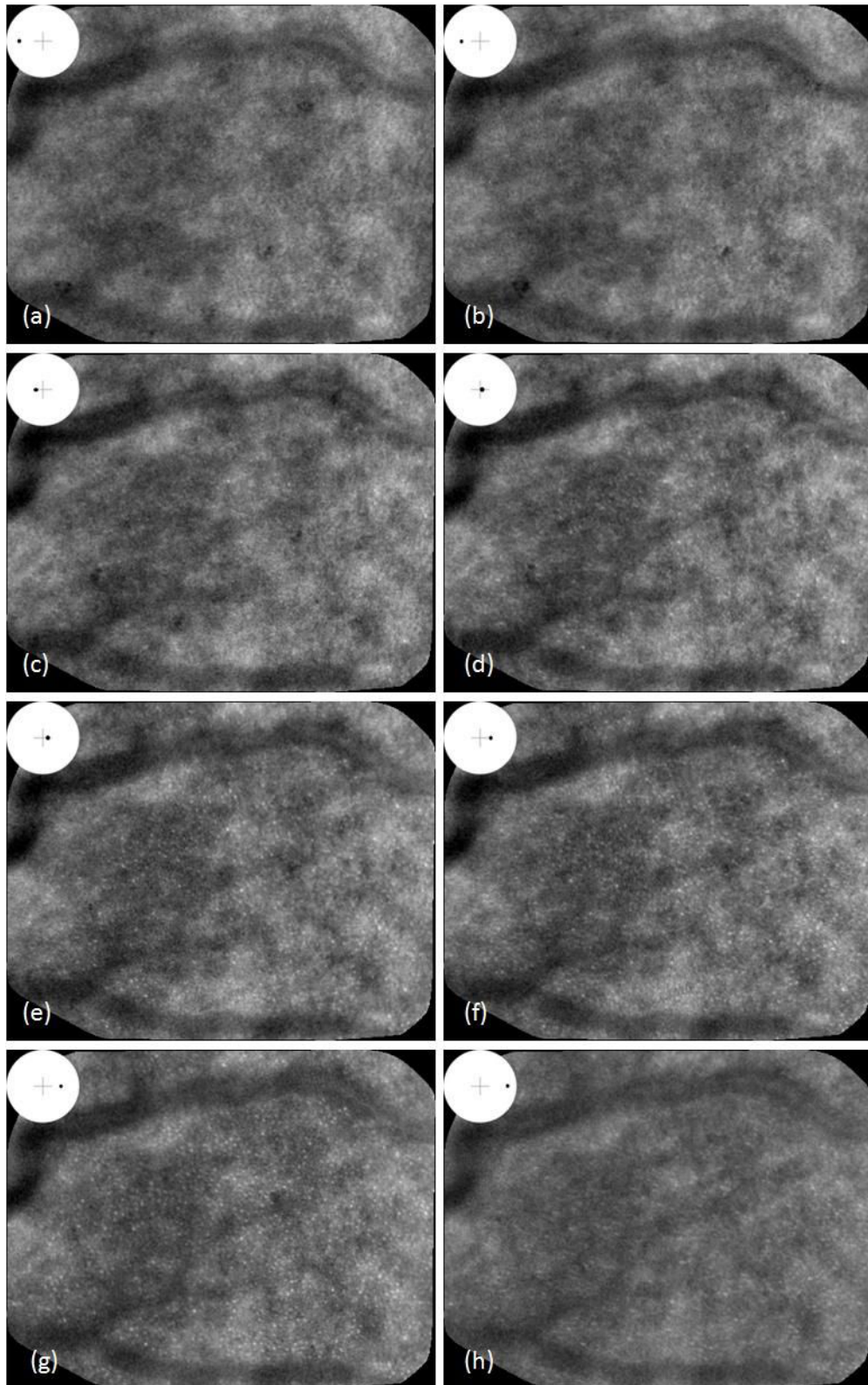


Figure 17 : Illustration du SCE en périphérie de la rétine (7,6degrés Nasal, 5,4degrés Temporal), cas d'un sujet sain, acquisition en translation. Les images représentées sont des images brutes recalées. Chaque disque blanc modélise la pupille ; le point noir représente le point d'entrée du faisceau incident par rapport au centre de la pupille. Absence de cônes visibles dans les images (a) et (b) puis apparition progressive de cônes dans les images (c), (d), (e), (f) et (g), puis disparition des cônes à l'image (h).

Ces images mettent en évidence que les cônes périphériques ne sont visibles que pour une plage d'angles d'incidence limitée puisque certains angles ont fourni des images où ces mêmes cônes ne sont pas visibles.

2. Résumé des méthodes utilisées pour le traitement d'images des cônes acquises par OA

Dans cette partie, nous proposons un résumé des techniques de traitement d'images utilisées : les méthodes de restauration notamment par déconvolution (section 2.1), les méthodes de recalage (section 0) et la détection automatique des cônes dans les images d'OA (section 2.3). Il ne s'agit pas d'un état de l'art exhaustif des méthodes de traitements d'images. En effet, nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux méthodes existantes qui ont déjà montré des résultats satisfaisants sur les images de cônes acquises en FIAO, car les objectifs de cette thèse résident principalement sur l'analyse d'image, à savoir l'amélioration de la compréhension des propriétés optiques des cônes, et non sur la recherche d'une méthode de traitement plus efficace que celles qui ont déjà été développées. Nous avons privilégié la piste d'une chaîne de traitement regroupant des méthodes existantes dont l'efficacité a déjà été prouvée sur ce type d'image pour pouvoir atteindre les objectifs de la thèse.

Pour la déconvolution d'image, on pourra se référer à l'état de l'art de [Blanco PhD 2013]. Pour la détection automatique des cônes, l'état de l'art présenté ici est exhaustif mais la description est plus détaillée pour les méthodes les plus récentes, notamment la méthode [Loquin 2011] dont l'efficacité a été prouvée statistiquement comme étant meilleure que ses prédécesseurs dans [Loquin 2012]. Les techniques de recalage d'images sont très nombreuses. Pour un état de l'art de ces techniques, on pourra se référer au chapitre 8 de l'ouvrage [Beutel 2000], ou encore à l'article [Zitova 2003] qui propose une classification de ces méthodes.

2.1 Déconvolution d'images

Les images brutes sont généralement de faible contraste puisqu'elles sont dominées par un bruit de fond important, et parce que la correction par OA n'est que partielle. L'interprétation de ces images est difficile sans un traitement approprié. La déconvolution est difficile parce que la fonction d'étalement de point (FEP) est inconnue et que l'image contient des informations en dehors du focus utilisé.

La déconvolution est une technique d'imagerie très utilisée notamment en imagerie spatiale. Elle permet de prendre en compte et de corriger les défauts d'acquisition liés à la nature du capteur. L'OA est une technique originalement développée pour la recherche spatiale : les aberrations (déformations du front d'onde) dues à la traversée de l'atmosphère par la lumière en astronomie sont en principe analogues aux aberrations dues à la traversée de l'ensemble cornée-pupille-cristallin.

Mathématiquement, l'image acquise i correspond à la convolution de l'objet (ou scène) o par une fonction h dite fonction d'étalement de point (FEP) propre au capteur à laquelle s'ajoute un certain bruit n (équation (1)).

$$(1) \quad i = h * o + n$$

La fonction d'étalement de point h est représentée dans le cas discret comme une matrice qui modélise comment un point va être imagé par le microscope. Cette fonction est donc le reflet des déformations optiques de l'équipement. Une FEP théorique peut être déterminée sur la base des propriétés optiques du système d'imagerie. Le principal avantage de cette technique est que la FEP obtenue est sans parasites. La technique expérimentale repose sur l'acquisition d'image d'un objet point. En astronomie, par exemple, il peut s'agir d'une étoile lointaine.

La déconvolution est l'opération qui vise à déterminer o à partir de l'image acquise et en faisant une estimation de h tenant compte du bruit dans l'image. Les méthodes de déconvolution d'images peuvent être classées en deux catégories : celles qui ne nécessitent aucune information sur le flou (également appelées méthodes de déconvolution myopes ou aveugles) et celles qui ont besoin de cette information.

- Méthodes de déconvolution myopes ou aveugles

La méthode de déconvolution aveugle la plus récente et plus spécifiquement adaptée aux images de fond d'œil acquises par OA a été développée à l'ONERA par l'équipe de Laurent Mugnier [Blanco 2011]. L'algorithme a été développé dès 1998 [Conan 1998] pour des images spatiales.

Le principe de cette méthode est le suivant : l'image 3D est modélisée en supposant que l'objet est à peu près le même dans tous les plans après la profondeur de champ. Le modèle 3D devient un modèle 2D avec une FEP qui est une combinaison linéaire inconnue de FEP pour chaque plan. Le problème revient à estimer les coefficients de cette combinaison et l'objet. Les paramètres à régler pour l'utilisation de cette méthode sont la distance totale de défocalisation (que l'on mesure en radian de phase) et le nombre de plans (donc le nombre de FEP) pour la discrétisation. Une défocalisation de π est un minimum, utilisé par les auteurs, et une défocalisation de 2π correspond déjà à une FEP très floue donc cette valeur est suffisante. Concernant le nombre de plans, si on en met beaucoup plus que 5 dans cet intervalle de 2π par exemple, le traitement devient plus long et les FEP sont de moins en moins différentes entre elles. Cinq FEP sont un bon compromis entre bon échantillonnage axial et temps de calcul. C'est pour cela que dans le cadre de cette thèse, nous avons utilisé ces valeurs de paramètres pour l'application de la déconvolution myope.

Dans [Blanco 2011], les auteurs montrent que la méthode traditionnelle de l'estimation conjointe échoue même pour un petit nombre de coefficients. Ils proposent une estimation marginale des hyper-paramètres inconnus (coefficients de la FEP, densité spectrale de puissance de l'objet et niveau de bruit), suivie d'une estimation de l'objet. Ils ont montré qu'une telle estimation a de meilleures propriétés de convergence statistiques et qu'elle permet d'obtenir une estimation de l'objet « non supervisée ».

Ils démontrent également que l'estimation conjointe aveugle classique ne parvient pas à faire une estimation de la FEP, même dans des cas simples. Les méthodes d'estimation conjointe classiques de la réponse impulsionnelle (RI) et de l'objet ont été formalisées dans la littérature comme la minimisation, conjointement sur la RI et l'objet, d'un critère d'attache aux données de type moindres carrés sous des contraintes de positivité et de support [Lane 1992, MacCallum 1990]. Dans [Blanco 2011], l'estimateur marginal a permis, sur des

simulations, de restaurer la FEP avec précision dans tous les cas, supervisés ou non. Cet estimateur présente de bonnes propriétés statistiques puisque les estimations convergent vers la valeur réelle quand les données tendent vers l'infini ou quand le bruit tend vers zéro, ce qui en fait un bon candidat pour la déconvolution myope d'images OA.

La *Figure 18* illustre deux exemples de déconvolution myope réalisée sur une image moyennée et sur une image brute (c) qui a été extraite de la pile d'images brutes ayant permis d'aboutir à l'image moyennée (a).

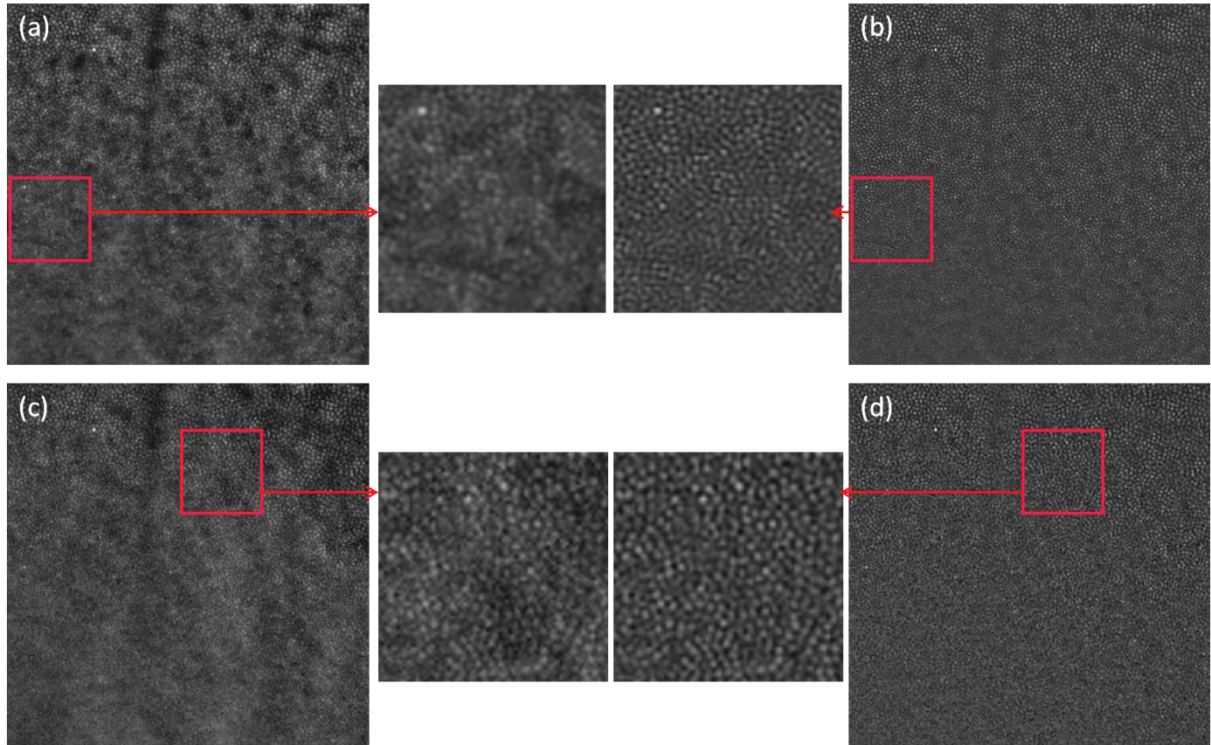


Figure 18 : Exemples de déconvolution sur image brute et sur image moyennée avec (a) image moyennée, (b) résultat de la déconvolution myope de (a), (c) image brute, (d) résultat de la déconvolution myope de (c).

Pour vérifier le bon déroulement de la déconvolution, il est possible d'afficher les densités spectrales de puissance des différentes données. Elles sont calculées selon la méthode décrite dans [Gratadour 2005]. A partir du modèle d'image donné par l'équation (1), les densités spectrales de puissances (DSP) des différentes données sont régies par l'équation (2) :

$$(2) \quad S_i = |TF(h)|^2 S_o + S_n$$

où S_i est la DSP de l'image i fournie par l'appareil, TF la transformée de Fourier, S_o la DSP de l'objet o , S_n la DSP du bruit n .

S_i est calculée directement sur l'image i , par moyenne sur des cercles concentriques du module au carré de la transformée de Fourier de l'image i (un exemple est donné par la courbe noire de la *Figure 20*). S_o et S_n sont calculées par l'algorithme expliqué de façon détaillée

dans l'annexe A de [Gratadour 2005] permettant de séparer leurs contributions dans S_i . Il s'agit d'une méthode non supervisée d'estimation des DSP de l'objet et du bruit. Elle utilise le même modèle paramétrique pour la DSP objet que dans [Conan 1998]. Un exemple de mesures des grandeurs correspondant à la déconvolution d'une image brute (*Figure 19*) est illustré dans la *Figure 20*.

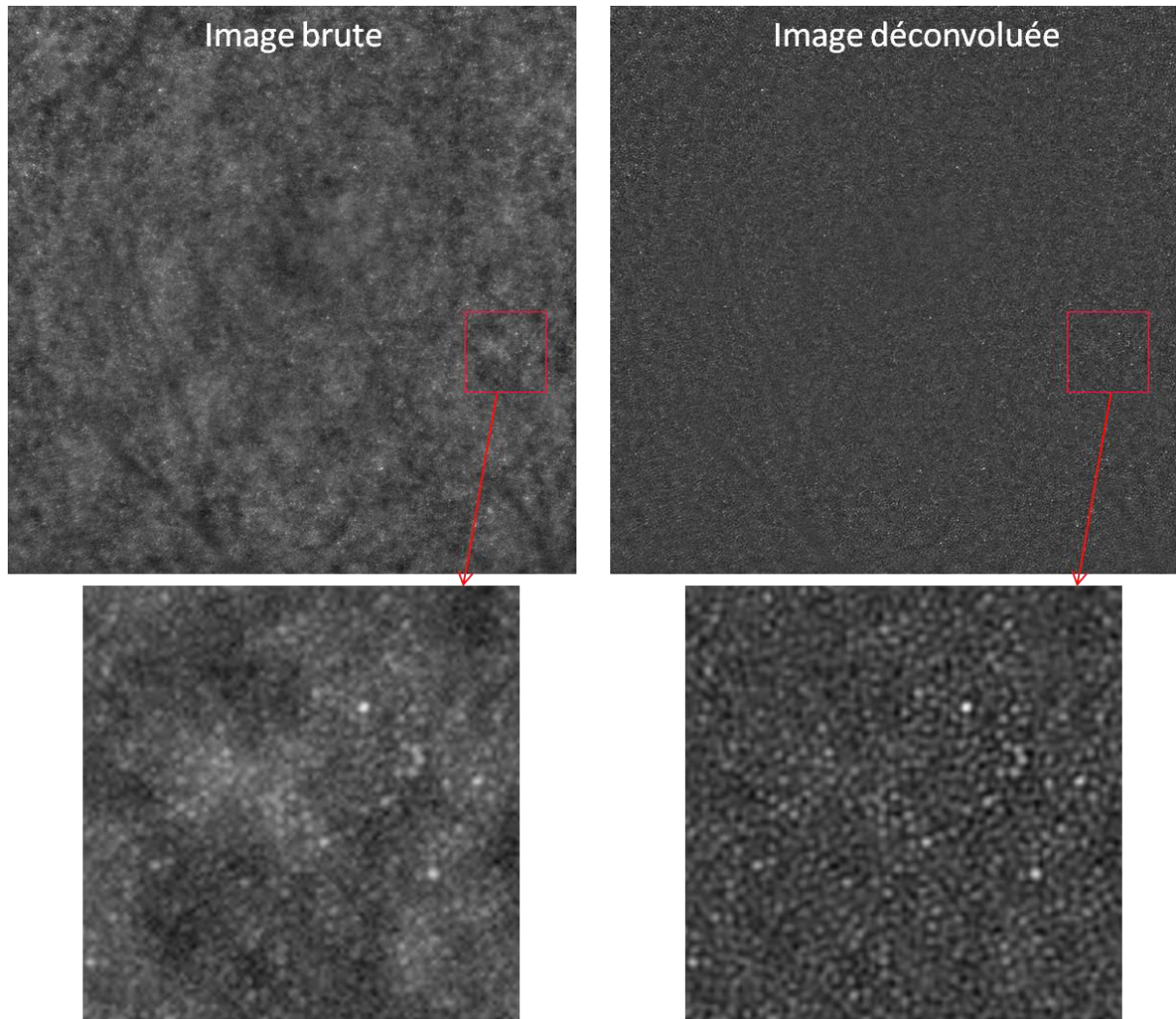


Figure 19 : Exemple de déconvolution myope réalisée sur une image brute de taille 4 degrés x 4 degrés (1200 x 1200 microns). Zoom 174 x 174 microns.

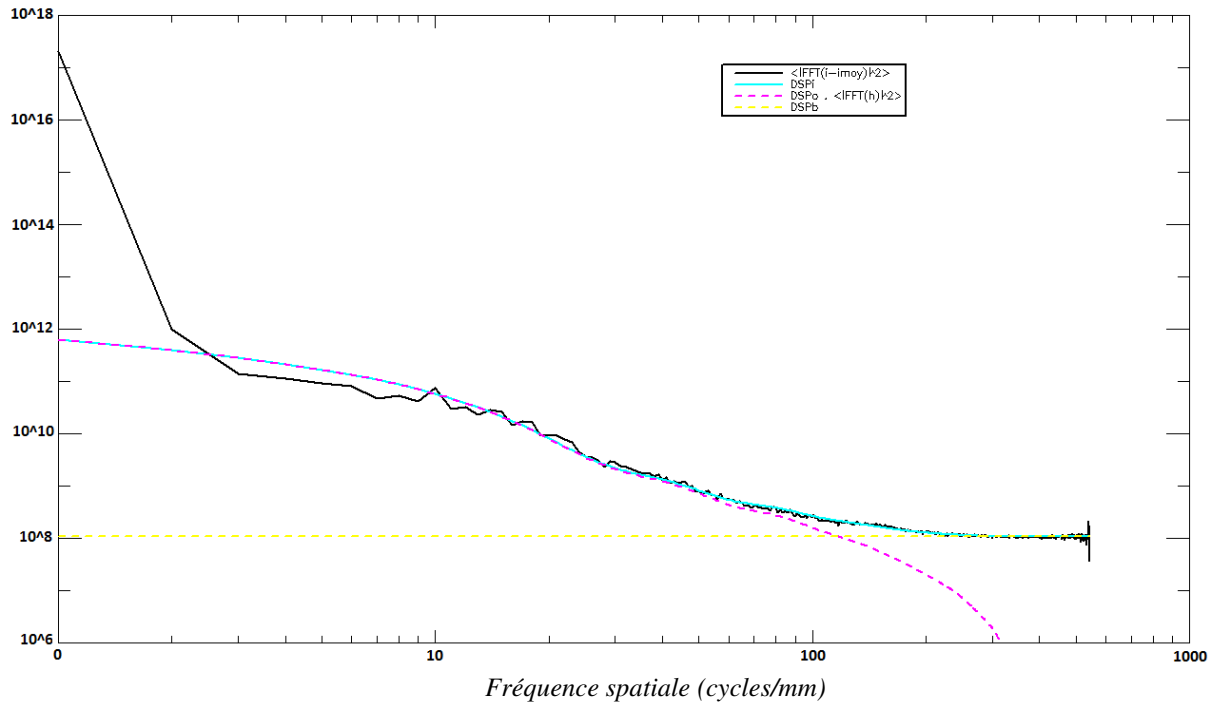


Figure 20 : Affichage des densités spectrales de puissance des données suivantes : S_i (courbe noire), $|TF(h)|^2 S_o$ (courbe rose), S_n (courbe jaune), $|TF(h)|^2 S_o + S_n$ (courbe bleue). Lorsque la courbe bleue est proche de la courbe noire, cela indique que les estimations de S_i , S_o et S_n se sont déroulées correctement.

- Méthodes de déconvolution non aveugles

Dans le cadre des méthodes de déconvolution non aveugles, la FEP est supposée connue et le bruit est inconnu. Comme généralement la FEP est mal conditionnée, une forme de régularisation doit être incorporée [Wendykier PhD 2009].

- Méthodes par filtrage

Les algorithmes de filtrage spectral comprennent de nombreuses techniques bien connues comme le filtre de Wiener [Gonzalez 1977]. Les approches générales, telles que la régularisation de Tikhonov [Hansen 2006], appartiennent également à ce groupe. Mais l'inconvénient de ces techniques est qu'elles dépendent de la structure particulière de la FEP et des limites imposées [Hansen 2006].

- Méthodes itératives

Avec des méthodes itératives, une séquence d'approximations de o (équation (1)) est construite, avec une augmentation attendue de la qualité de la reconstruction au cours des itérations. Mathématiquement, cela équivaut à la résolution d'un problème d'optimisation impliquant la FEP et l'image i (équation (1)), ce qui pourrait être formulé comme un problème linéaire simple au sens des moindres carrés ou plus complexe (éventuellement non linéaire) intégrant des contraintes. Comme avec les méthodes de filtrage spectral, la régularisation doit être incorporée en utilisant, par exemple, une contrainte a priori, ou avec un critère de convergence approprié, ou encore une combinaison de ces techniques.

Globalement, une méthode de déconvolution itérative présente toujours les mêmes étapes :

- Initialisation de la scène (o dans l'équation (1))
- Pour $j = 0, 1, 2, 3...$
 - Estimation de $o(j+1)$ incluant $o(j)$, la FEP h , une précondition permettant d'accélérer la convergence et éventuellement d'autres paramètres
 - Test de satisfaction du critère d'arrêt
- Fin de la boucle

Des exemples bien connus d'algorithmes de déconvolution d'image itératifs comprennent des approches de type maximisation de la vraisemblance (tels que l'algorithme de Richardson-Lucy), des méthodes de type gradient, et beaucoup d'autres. Un avantage important de l'utilisation des algorithmes itératifs est qu'ils peuvent être utilisés sur une large classe de modèles de flous. Les méthodes itératives sont généralement plus coûteuses en temps de calcul que les méthodes de filtrage spectral. Il est possible d'incorporer des contraintes (par exemple, de non-négativité) dans les algorithmes. Les principaux défis de ce type de méthodes concernent la régularisation (comment stabiliser la méthode itérative en présence de bruit), et la détermination d'un critère d'arrêt approprié.

Il existe de très nombreux outils informatiques pour la déconvolution itérative d'images comme « Restore Tools » (package orienté objet utilisable sur matlab pour la restauration d'images, <http://www.mathcs.emory.edu/~nagy/RestoreTools/>), le package java Iterative Deconvolve 3D écrit par Robert Doguerthy (<http://www.optinav.com/Iterative-Deconvolve-3D.htm>) et plus récemment un package java « open source » appelé Parallel Iterative Déconvolution [Wendikyer 2008] qui dérive des deux premiers, incluant quatre méthodes de déconvolution itératives :

MRNSD - Modified Residual Norm Steepest Descent [Nagy 2000]: il s'agit d'un algorithme de minimisation utilisant la méthode des moindres carrés avec contrainte de positivité, qui représente une variante de l'algorithme proposé par [Kaufman 1993].

WPL - Wiener Filter Preconditioned Landweber [Bertero 1998]: cette méthode se fonde en partie sur l'algorithme dit DAMAS de Thomas F. Brooks et William M. Humphreys, Jr. (NASA - Langley Research Center) [Brooks 2006] utilisé en acoustique. Il utilise la formule itérative de Landweber [Landweber 1951] et un filtre de Wiener comme précondition.

CGLS - Conjugate Gradient for Least Squares [Björck 1996] : c'est une méthode aux moindres carrés utilisant la formule du gradient conjugué pour la résolution d'un système linéaire. Cette méthode utilise les sous espaces de Krylov: l'espace engendrée $\{v, Av, \dots, A^{m-1}v\}$ est un sous espace de Krylov ; projeter le problème linéaire $v = Ax - b$ dans ce sous espace permet de se ramener à un problème de petite taille qui approche le problème initial.

HyBR - Hybrid Bidiagonalization Regularization [Chung 2008]: les méthodes de régularisation Lanczos-hybrides (hyBR) ont été proposées comme des approches efficaces pour résoudre des problèmes inverses mal posés. Les méthodes de Lanczos limitent la solution à trouver dans un sous-espace de Krylov, mais elles sont entravées par un comportement de semi-convergence, dans la mesure où la qualité de la solution augmente d'abord puis diminue. Les méthodes hybrides consistent à appliquer une technique de

régularisation standard, telles que la régularisation de Tikhonov, à chaque itération. Ainsi, la régularisation des méthodes hybrides est réalisée à la fois par un filtre de Krylov et par le choix approprié d'un paramètre de régularisation à chaque itération. Dans [Chung 2008], les auteurs proposent une méthode dite de « validation croisée généralisée pondérée » (WGCV, *weighted generalized cross validation* en anglais) pour choisir le paramètre. En utilisant cette méthode, les auteurs démontrent que le comportement de semi-convergence des méthodes de Lanczos peut être surmonté, ce qui rend la solution moins sensible au nombre d'itérations.

Contrairement à la méthode myope [Blanco 2011], ces techniques supposent une connaissance a priori du modèle de la FEP. Dans le cadre des travaux de Kévin Loquin pour la mise en place d'un logiciel de détection automatique des cônes sous imageJ, c'est la méthode WPL avec l'hypothèse d'une FEP de modèle gaussien qui a été intégrée au logiciel pour fournir aux médecins une possibilité de restaurer les images de faible qualité. Le choix s'était orienté vers une méthode « open-source » pour des raisons de facilité d'implémentation, mais aussi pour répondre aux exigences de rapidité de calcul dans un contexte clinique. Dans le cadre de ces travaux de thèse, une étude comparative a été faite pour comparer les influences de la méthode de déconvolution myope et de la méthode itérative WPL avec FEP « gaussienne » sur la détection automatique des cônes (chapitre 2.3). Pour des facilités d'écriture, la méthode de déconvolution itérative avec FEP gaussienne s'appellera méthode de déconvolution gaussienne dans la suite du manuscrit. Un exemple de déconvolution gaussienne est illustré en *Figure 21*.

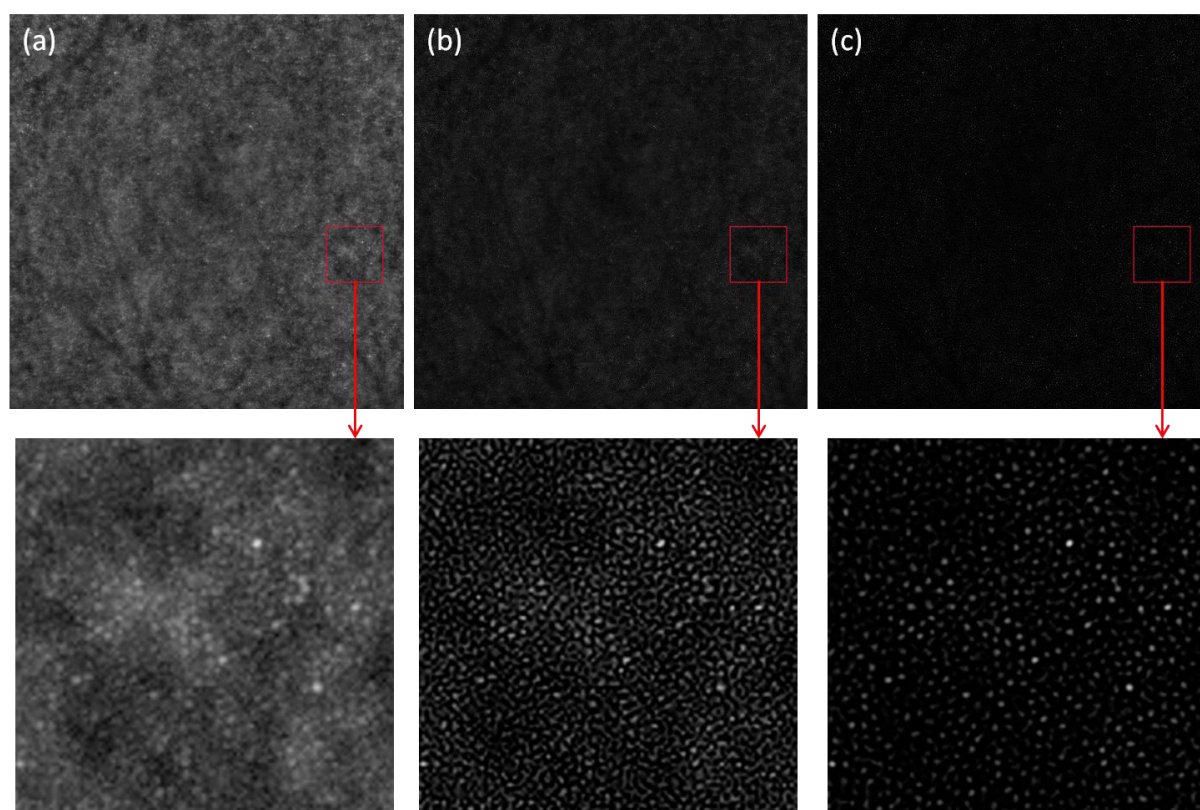


Figure 21 : Exemples de déconvolutions WPL avec une PSF gaussienne d'écart type 13 (b) et 25 (c), réalisées sur l'image brute (a) qui est la même que dans la Figure 19.

2.2 Recalage d'images

En raison des rotations de la tête du sujet et des mouvements naturels de l'œil au cours de l'acquisition avec le RTX1, les images brutes acquises par le système d'imagerie sont décalées entre elles. Les images acquises par OA sont plus difficiles à recaler par rapport aux images standards. La nature "adaptative" du capteur implique que cela pourrait violer l'hypothèse que deux images sont planes et liées par un modèle global de transformation (comme par exemple affine). La précision du recalage doit être inférieure au pixel afin de ne pas diminuer la résolution de l'image moyenne par rapport à celle des images individuelles. Dans le cadre de ces travaux de thèse, nous avons eu besoin de recaler des images brutes, mais également des images moyennées. Nous avons donc besoin d'une précision inférieure à un pixel.

La mise en place d'une technique de recalage repose sur quatre composantes :

- Le choix d'une transformation et de son domaine de définition (exemples de transformations rigides comme les rotations, translations).
- Les primitives utilisées (ce sur quoi portent la transformation et le critère de similarité) : elles peuvent être extrinsèques comme dans le cas de l'utilisation de marqueurs ou propres à l'image tels que des points de repères ou des structures particulières, des primitives géométriques ou différentielles (cas des lignes de crête), les intensités des pixels...
- Le choix d'un critère de similarité : les fonctions de similarité sont très nombreuses, il peut s'agir par exemple d'une mesure de corrélation entre deux images, la recherche du point le plus proche, la minimisation de la distance entre des points de repère...
- La méthode d'optimisation : il en existe un très grand nombre, on peut par exemple citer les méthodes classiques du gradient ou du gradient conjugué, les méthodes multi-échelles et multi-résolutions qui permettent une convergence plus rapide de l'algorithme.

Dans le cadre de notre étude, les images sont obtenues avec le même instrument ce qui nécessite un recalage monomodal). Les transformations peuvent être soit des déformations non rigides (homothéties, ou plus complexes) soit rigides (translation, rotation) ou une combinaison des deux. Dans le cas de l'imagerie FIAO, des déformations non rigides n'ont jamais été mises en évidence. Nous nous sommes donc focalisés sur les méthodes de recalage permettant de déterminer des transformations rigides entre les images (impliquant uniquement des rotations et des translations).

Dans la littérature, quelques méthodes de recalage d'images ont été appliquées à l'imagerie à haute résolution de la rétine en imagerie plein champ. Avant de fournir une image finale, le système d'OA utilisée procède déjà à un recalage subpixelique des images brutes avant de calculer une moyenne. La méthode de recalage utilisée est une méthode de maximisation de la corrélation croisée [Kulscar 2013] sur des points d'intérêts extrait avec le détecteur de [Harris 1988]. La méthode de recalage est étroitement liée à la procédure de calcul de la moyenne des images brutes et a fait l'objet de la création d'un logiciel appelé CK fourni par la société Imagine Eyes. Le principe de la corrélation croisée est le suivant : une région d'intérêt (ROI ou « region of interest » en anglais) est sélectionnée parmi plusieurs positions dans l'image à recaler [Meitav 2011, Xue 2007]. Ce procédé présente plusieurs

inconvenients en ce qui concerne les caractéristiques des séquences d'images à recalcr. En effet, la maximisation de la corrélation croisée est connue pour son manque de robustesse devant la variabilité de la qualité des images [Zitova 2003]. De plus, si la ROI sélectionnée contient des taches associées à de la poussière, cela conduit souvent à une corrélation croisée maximale parasite. La maximisation de la corrélation croisée est généralement très exigeante en temps de calcul du fait de la largeur de la ROI utilisée ici à cause du faible rapport signal à bruit. L'autre problème est de pouvoir gérer la variabilité de la qualité d'image variable de manière à éviter une diminution de la qualité de l'image moyenne reconstruite. Cela exige d'exclure les images de trop mauvaise qualité à partir de l'estimation de la moyenne et / ou de pondérer les images selon leur contribution à un critère. Dans [Meitav 2011], les images sont pondérées par leur coefficient de corrélation croisée, alors que les auteurs de [Huang 2011] utilisent une pondération locale. Dans [Kulscar 2013], les auteurs fondent leur estimation de mouvement sur l'extraction de primitives et des appariements robustes, un processus qui est très populaire [Zitova 2003]. Deuxièmement, si la qualité de l'image moyennée est suffisante, alors les paramètres d'un modèle de mouvement affine [Odobez 1995] sont calculés.

La méthode de recalage proposé par Léonardo Blanco [Blanco PhD 20013] est une méthode qui a fait l'objet d'un dépôt de brevet en 2013. Elle ne tient compte que de la présence de translations entre les images. L'auteur a fait l'hypothèse que les rotations rencontrées sont de très faible amplitude. Il propose une méthode de maximisation de vraisemblance qui intègre l'hétérogénéité de la transmission instrumentale globale se présentant sur les images brutes sous forme d'une cloche d'illumination brillante au centre et plus sombre sur les bords (*Figure 12*). Ses travaux sont une extension de ceux de Damien Gratadour [Gratadour 2005 bis] à des images acquises avec un grand champ, affectées par une transmission instrumentale globale non homogène. Selon la classification de [Zitova 2003], il s'agit d'une technique basée sur l'intensité («area-based» selon l'article). Le principe est de considérer chaque image individuelle comme une portion décalée et discrétisée d'une image dite image de référence et la procédure consiste à estimer à la fois ces décalages et l'image de référence en cherchant à maximiser conjointement la vraisemblance de la référence et des décalages. La méthode d'optimisation utilisée est la méthode VMLM-B (Variable Metric Limited Memory, Bounded en anglais) [Thiebaut 2002]. L'inconvénient de cette méthode de recalage est qu'elle ne tient pas compte des rotations.

Les deux méthodes présentées ont été spécifiquement mises au point pour le recalage d'images brutes en vue du calcul d'une image moyenne permettant d'aboutir à une image ayant un meilleur rapport signal sur bruit.

Une troisième méthode, permettant de recalcr les images brutes entre elles ainsi que des images moyennées prises à des temps et/ou avec des angles d'incidence différents, peut être utilisée par l'intermédiaire du logiciel commercial i2k retina (<http://www.dualalign.com/i2kalign-technology.php>). La méthode utilisée est décrite dans [Yang 2007]. Les auteurs proposent un algorithme de recalage de type « Dual- Bootstrap Iterative Closest Point » (GDB-ICP) entièrement automatisé et conçu pour traiter une grande variété de paires d'images, y compris celles montrant des changements d'échelle, des différences d'orientation, un faible recouvrement, des différences d'éclairage et des modalités différentes. Les primitives de l'image sont extraites en utilisant des matrices d'autocorrélation [Shan 2005], qui ont été largement utilisées dans les détecteurs de coins de Harris et ses variantes [Belongie 1998, Harris 1988, Mikołajczyk 2004]. Les primitives extraites sont des points et des coins largement distribués dans l'ensemble des images, même dans les régions de très faible contraste. En insistant sur la couverture dense des primitives dans les images, cela

permet de s'assurer que des primitives seront presque toujours disponibles, ce qui rend les algorithmes de calcul de la fonction de similarité plus fiables, ainsi que les critères de décision dépendant de ces primitives, limitant ainsi les incohérences entre les images. Les trois composantes primaires du système présenté par [Yang 2007] sont l'algorithme d'initialisation, la technique d'estimation et les critères de décision.

Le procédé d'initialisation utilise l'extraction et la mise en correspondance de points-clés [Lowe 2004]. Chaque correspondance est utilisée pour générer une première transformation qui n'est valable que dans une petite région entourant les points-clés appariés de chaque image. Il y a deux raisons à cela: d'abord, pour les paires d'images les plus difficiles à recaler, une fraction relativement petite d'appariements de points-clés est correcte. Deuxièmement, pour les correspondances de points-clés qui sont correctes, la procédure d'estimation basée sur la croissance et l'affinement progressif recalc généralement les images avec précision.

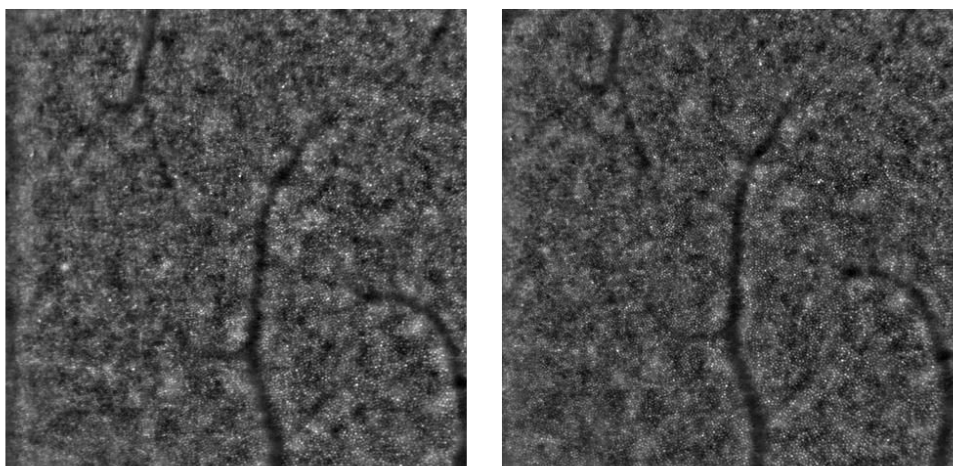
La technique d'estimation commence avec les régions locales initiales et les estimations de transformation associées, traitant chaque cas individuellement et de façon successive. L'objectif est d'élargir la région pour couvrir l'ensemble de la zone de recouvrement (zone commune entre les images à recaler) entre les images tout en affinant l'estimation à chaque fois que la région change. Le but est de maintenir l'estimation à un niveau optimal à mesure que le problème croît en complexité. Dans le même temps, lorsque des nouvelles informations sont incorporées, il peut être possible de passer à un modèle de transformation d'ordre supérieur plus à même de décrire la configuration de plus grandes régions dans les images. D'après [Yang 2007] ces étapes sont réalisées en généralisant l'algorithme dit Dual-Bootstrap ICP (Iterative Closest Point en anglais), qui a été proposé pour le recalage des images de rétine [Stewart 2003]. Lors de l'application au recalage des images de rétine en OA, l'utilisation d'un modèle de transformation rigide (rotation + translation) suffit pour recaler correctement les images).

Le processus de décision détermine si une estimation générée par l'algorithme Dual-Bootstrap est un recalage correct des deux images. La technique combine plusieurs critères de décision qui mesurent la précision, la cohérence et la stabilité du recalage. L'ensemble de la procédure prend une séquence ordonnée d'estimations de départ (générées à partir de l'appariement de points clés) et applique l'algorithme Dual-Bootstrap ICP à chaque estimation successivement. Suivant la convergence de chaque estimation Dual-Bootstrap, le critère de décision est appliqué. Si l'estimation passe ces tests, elle est validée et les deux images sont considérées comme recalées. Sinon, le processus se poursuit à partir d'une autre estimation initiale d'appariements de points clés et ainsi de suite. L'algorithme est en échec si aucun de ces appariements initiaux n'a pu aboutir à une estimation correcte.

Les auteurs ont réalisé des expériences sur 22 paires d'images de données représentatives de ces variables, qui ont démontré l'efficacité de la conception et qu'un recalage d'images globalement applicable et entièrement automatique était possible. Leurs expériences ont également mis en évidence des possibilités d'amélioration. La plus importante de celles-ci est l'initialisation, surtout quand il y a de grandes variations d'apparence entre les images, causée par des changements physiques ou d'éclairage, ou par des différences dans les modalités d'image. Malgré cela, les expériences rapportées dans l'article [Yang 2007] et son utilisation généralisée ont montré que cette méthode est efficace pour une utilisation généralisée.

Le choix d'une méthode de recalage s'est portée sur la troisième des méthodes décrites ci-dessus pour des raisons de facilité d'accès (logiciel largement distribué à l'hôpital des XV-XX), et parce qu'elle permet de calculer efficacement toutes les transformations (translations et rotations) observées dans le cas de l'imagerie à haute résolution de la rétine humaine. La deuxième méthode est une technique propriétaire et brevetée et ne tient pas compte des rotations dans les images. La première méthode est, par son implémentation, étroitement liée au calcul de la moyenne d'une pile d'images brutes. Un exemple de recalage réalisé avec le logiciel i2k retina est illustré en *Figure 22*.

Images
initiales



Images
recalées
(affichage des
intersections)

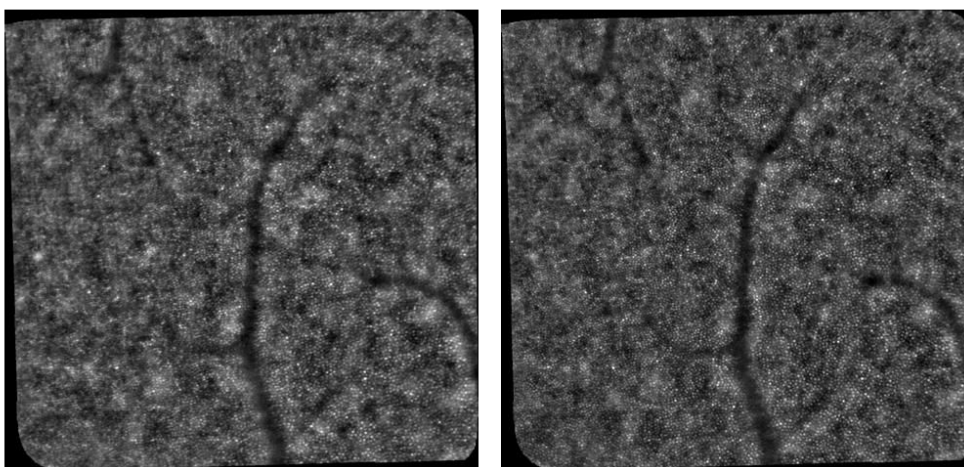


Figure 22 : Exemple de recalage réalisé avec le logiciel i2k retina [<http://www.dualalign.com/retinal/image-registration-montage-software-overview.php>]. Les 2 images 4 degrés x 4 degrés ont été prises avec des angles de vue différents. Les intersections affichées correspondent aux zones de recouvrement communes entre les deux images recalées.

Afin de limiter l'influence des variations d'éclairage entre les images, il est possible d'uniformiser la luminance des images par extension d'histogramme avant de faire le recalage. Pour cela, il suffit de sélectionner une image arbitrairement et d'appliquer un décalage d'histogramme aux autres images pour qu'elles aient la même luminance que celle-ci. Nous rappelons que la luminance (ou brillance) est définie comme la moyenne de tous les pixels d'une image. Par exemple, dans le cas de deux images I et J, de luminances respectives i et j , on peut ajouter à J la différence $d=i-j$ pour la mettre à la même luminance que I. Un exemple est illustré en *Figure 23*.

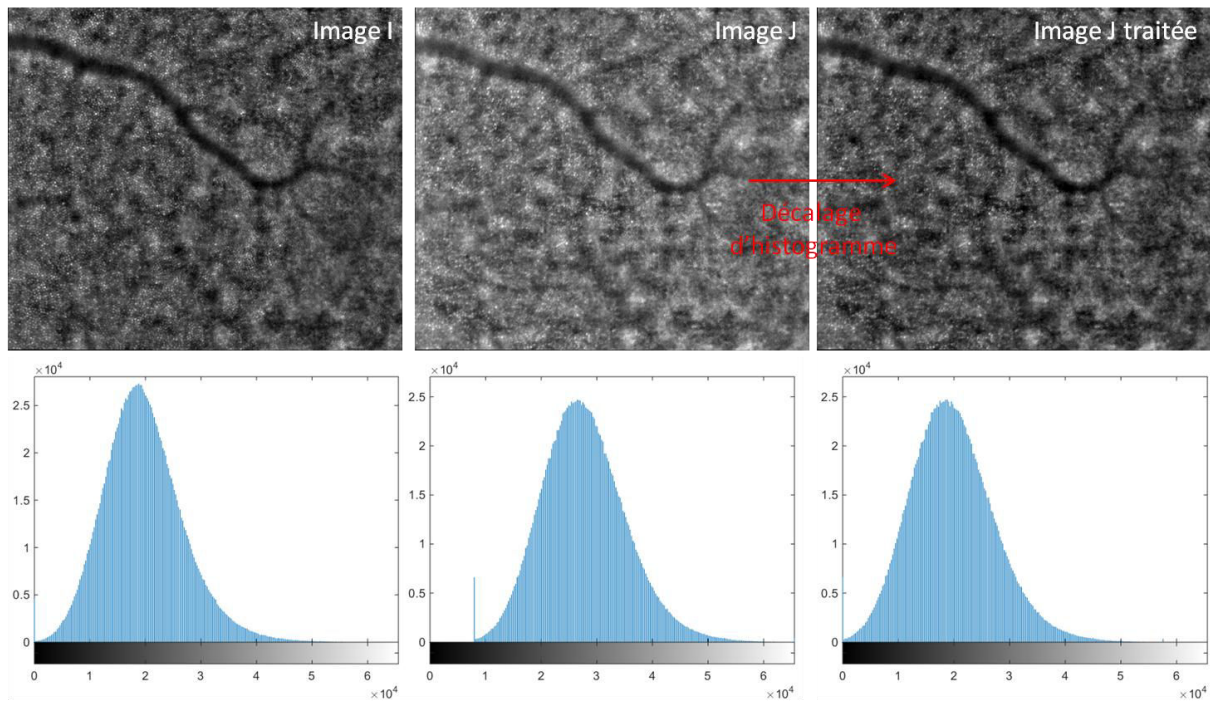


Figure 23 : Illustration de la procédure d'égalisation de luminance entre deux images, nommées I et J dans cet exemple.

Avec la méthode [Yang 2007], nous obtenons des résultats satisfaisants pour le recalage des images, avec une erreur inférieure à 1 pixel. En effet, pour chaque recalage effectué avec le logiciel, il est possible de retourner l'erreur RMSE correspondante afin de s'assurer de la précision du recalage.

Avant le recalage des images brutes, nous procédons systématiquement à la suppression de la cloche d'illumination avec une application (plugin imageJ) fournie par la société imagine Eyes permettant d'extraire aux images initiales la cloche d'illumination par filtrage gaussien.

2.3 Détection automatique des cônes

Les travaux portant sur la détection automatique des photorécepteurs dans les images OA sont peu nombreux. Li et Roorda [Li 2007] proposent de réduire le bruit de l'image par filtrage passe-bas avant de détecter les maxima locaux d'intensité. L'image binaire résultante est dilatée, afin de fusionner les zones distantes de moins de 2 μm (distance minimale entre deux photorécepteurs). Dans [Xue 2007], l'approche décrite est similaire, mais les maxima régionaux sont recherchés par ordre d'intensité décroissante. Chaque nouvelle détection est associée à la définition d'une zone d'influence dans laquelle aucune nouvelle détection ne peut être faite, donc un photorécepteur ne peut être compté qu'une seule fois. Si ces deux algorithmes sont très similaires, le second semble plus robuste et plus précis dans la mesure où les informations les plus fiables sont exploitées en priorité. Ces méthodes n'ont pas été utilisées dans le cadre de notre travail car elles offrent de moins bons résultats que la méthode décrite par la suite.

La méthode utilisée dans ce manuscrit a été proposée par Kevin Loquin [Loquin 2011] et repose également sur la détection des maxima locaux d'intensité. Il s'agit d'une version tronquée de l'algorithme de segmentation par immersion [Vincent 1991] appliquée à l'image inversée. Ainsi, les bassins détectés par la segmentation par immersion correspondent aux spots lumineux dans l'image originale. Dans cette méthode, on ne cherche pas à obtenir une séparation complète des bassins mais plutôt à définir des zones associées à un maximum (un minimum dans l'image inversée) pour un paramètre de tolérance donné. Cette tolérance correspond à la «profondeur» des bassins détectés.

Une interface graphique (*Figure 24*) simple d'utilisation a été implémentée par Kévin Loquin sous forme d'un plugin imageJ. Elle permet d'extraire la liste des positions des cônes, une carte de densité, l'image segmentée et d'autres données morphométriques (*Figure 25*). Cette interface permet à l'utilisateur d'ajuster le paramètre de tolérance mais également d'appliquer une déconvolution (gaussienne pour ce logiciel) si cela est nécessaire. Pour cette dernière il lui est possible d'ajuster l'écart type de la FEP.

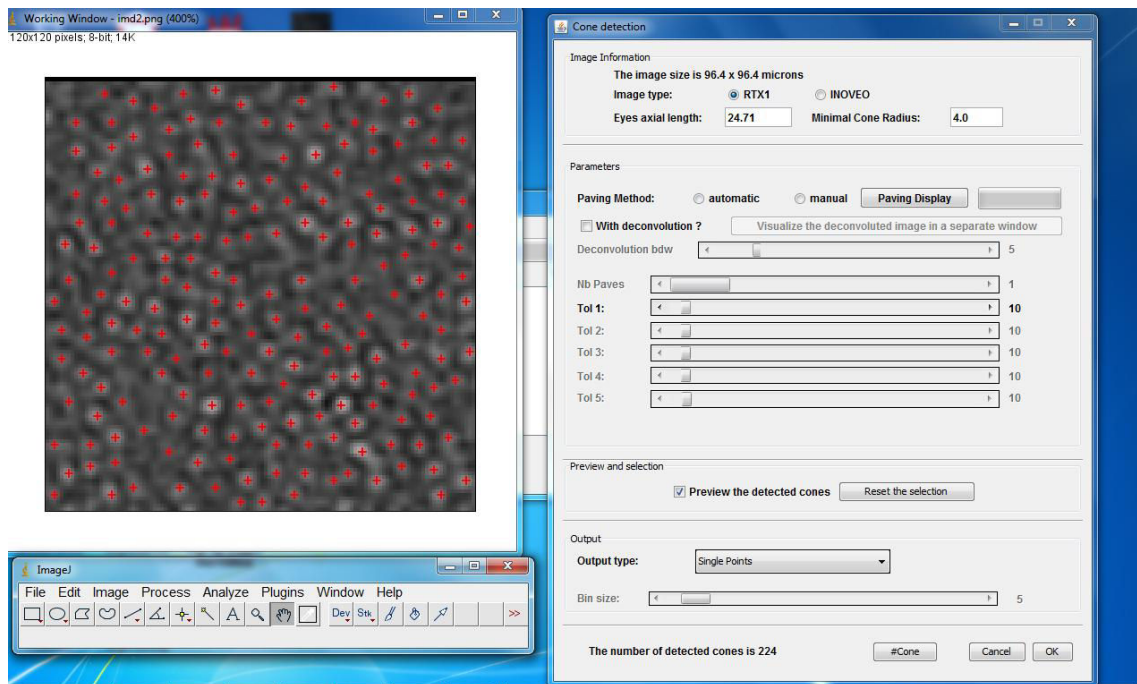


Figure 24 : Interface du logiciel de détection des cônes sous imageJ [Loquin 2011].

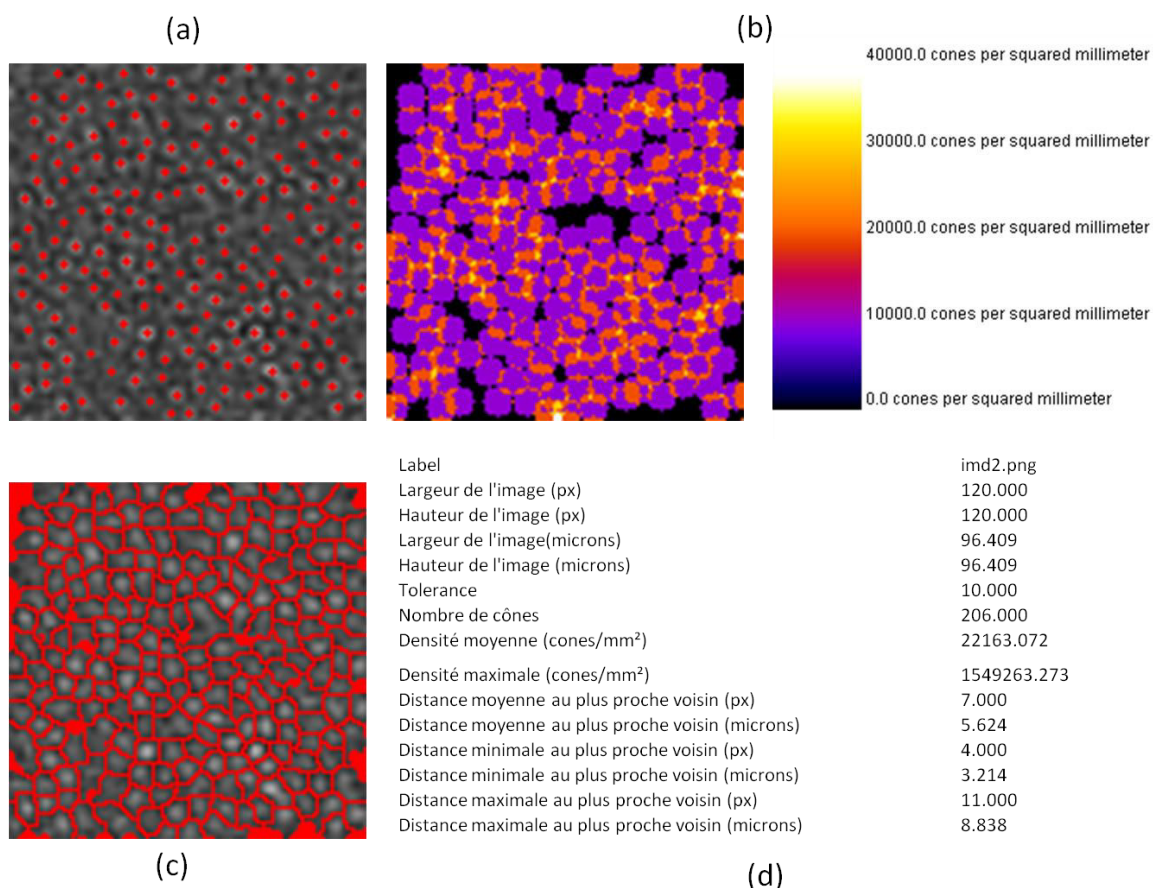


Figure 25 : Exemple de résultats de détection fourni par le plugin, avec (a) affichage des positions des cônes détectés dans l'image, (b) affichage de la carte des densités, (c) affichage du résultat de la segmentation de l'image, et enfin (d) tableau des données morphométriques.

Dans [Loquin 2012], les auteurs montrent que la méthode de détection automatique des cônes avec ajout d'une déconvolution gaussienne fournit de meilleurs résultats statistiques que ces prédécesseurs [Loquin 2011], [Li 2007] et [Xue 2007], ce qui justifie le choix de cette méthode par rapport aux techniques antérieures.

Un logiciel commercial permettant de faire une détection automatique des cônes est également proposé par la société ImagineEyes et est installé sur les postes d'OA aux XV-XX. Il s'agit d'un logiciel propriétaire. Celui-ci fournit des résultats similaires à la méthode de [Loquin 2011]. L'interface et un exemple de comptage sont illustrés dans la *Figure 26*. La méthode utilisée par ce logiciel est décrite dans [Bidaut Garnier 2014]. Les positions des photorécepteurs sont calculées par détection automatique des coordonnées centrales des petites taches circulaires dont la luminosité est plus élevée que le niveau de fond environnant. Tout d'abord, l'image moyenne, obtenue avant suppression du fond et l'étirement d'histogramme, est traitée à l'aide de filtres adaptatifs [Kuan 1985] et multi-échelles [Lindeberg 1993]. Ensuite, les coordonnées des maxima locaux de l'image résultante sont enregistrées. La répartition spatiale de ces coordonnées de points est ensuite analysée par le logiciel en termes de distance inter-cellules (μm), et de densité (cellules / mm^2).

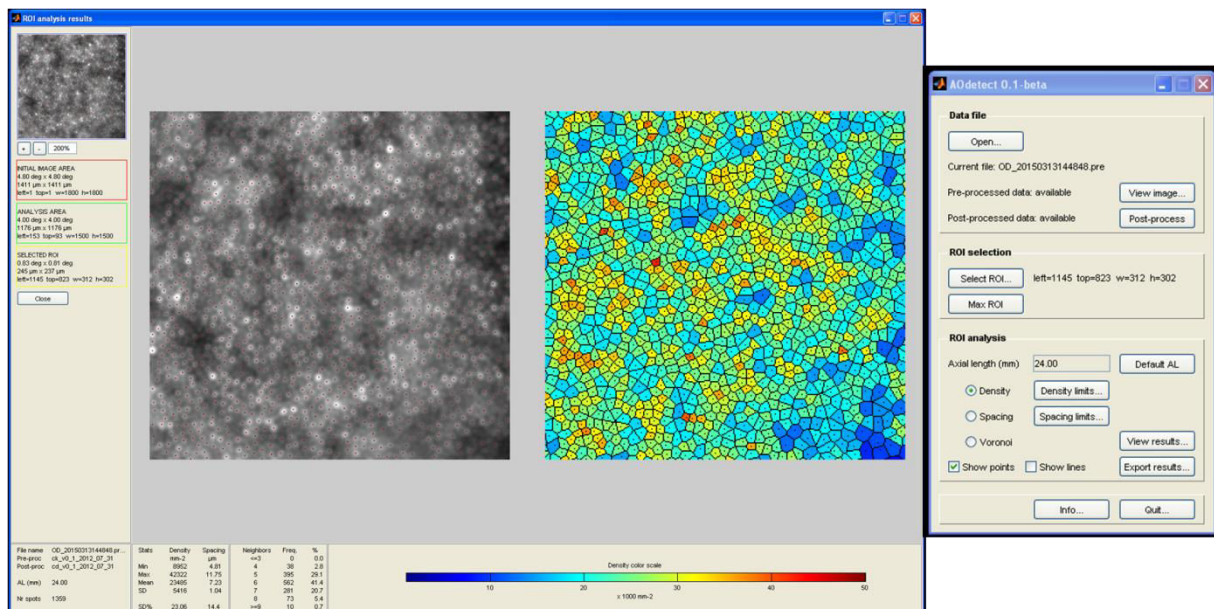


Figure 26 : Interface du logiciel propriétaire Imagine Eyes de détection des cônes sur les images d'optique adaptative [Bidaut Garnier 2014].

Le logiciel d'ImagineEyes permet d'ajuster l'intervalle de densité désiré ainsi que l'intervalle d'espacement inter-cônes. En général, les intervalles par défaut sont [1000,50000] cônes/ mm^2 pour la densité et de [4,30] μm pour l'espacement inter-cônes. Le résultat est moins modulable que dans le cas de la méthode de [Loquin 2011] où le paramètre de tolérance ajusté correspond à une distance topographique entre maxima locaux.

Dans la *Figure 27*, un exemple comparatif entre les deux logiciels est illustré dans le cas d'un sujet sain.

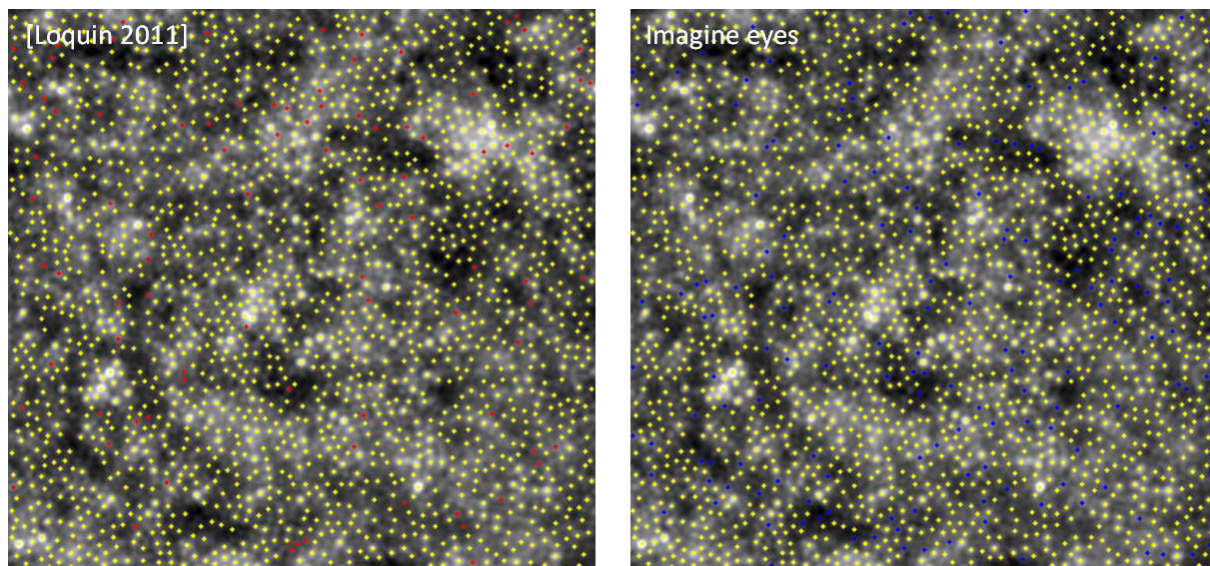


Figure 27 : Exemples de détections réalisées avec la méthode de [Loquin 2011] et le logiciel de détection d'ImagineEyes. Il persiste quelques différences mais que la majorité des cônes présents dans l'image (pointés en jaunes) sont détectés par les deux méthodes. Taille des images 300 x 300 μm^2 . Paramètres de la détection [Loquin 2011] : écart type de la FEP fixée à 5 et indice de tolérance à 10.

Nous avons réalisé un petit test comparatif pour cinq images de tailles 96 x 96 μm^2 (120 x 120 pixels) provenant de cinq sujets sains. Et nous avons soumis ces cinq images à une détection manuelle par un expert qui constitue notre « vérité terrain ». Les détections automatiques avec les deux méthodes ont été comparées en mesurant la sensibilité et le taux de faux positifs sur la base de cette vérité terrain. Globalement les performances sont les mêmes avec une meilleure sensibilité et des taux de faux positifs plus bas pour la méthode de [Loquin 2011]. Dans la *Figure 28*, sont représentées les mesures de sensibilité et de faux positifs obtenues avec les deux logiciels. Dans le cas de la méthode de [Loquin 2011], les paramètres ont été ajustés image par image, de façon à avoir la meilleure sensibilité pour un taux de faux positifs inférieur à 26% (taux maximal fournie initialement par le logiciel de la société ImagineEyes pour ces cinq images, *Figure 28*).

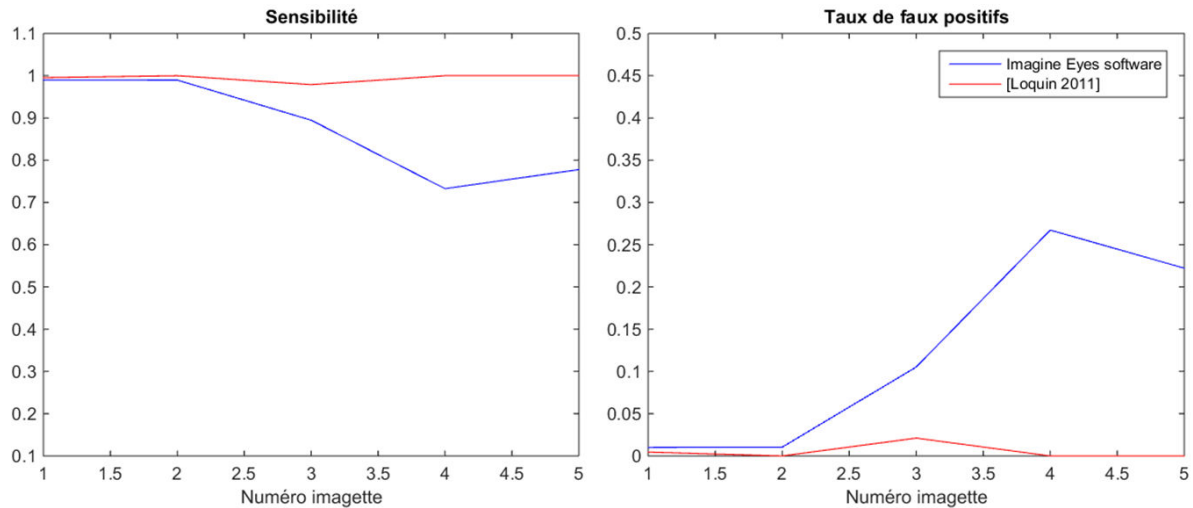


Figure 28 : Comparaison de deux méthodes de détection automatique des cônes sur les images FIAO : logiciel Imagine Eyes (courbes bleues) et méthode de [Loquin 2011] (courbes rouges).

De plus, l'avantage de la méthode de [Loquin 2011] par rapport au logiciel d'ImagineEyes réside dans la possibilité, pour l'opérateur, d'ajuster les paramètres de façon à obtenir le meilleur résultat de détection mais aussi d'ajouter ou de supprimer manuellement des détections sur la carte. Une interface interactive semble ainsi mieux adaptée à un contexte clinique. En revanche, le logiciel d'ImagineEyes est plus adapté pour le travail sur les très grandes images et est plus rapide en temps de calcul.

2.4 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté un résumé des méthodes sur lesquelles nous sommes appuyés pour réaliser l'ensemble de nos travaux. Nous avons présenté les techniques récentes de déconvolution et de recalage d'images appliquées à l'imagerie à haute résolution de la rétine humaine et avons expliqué les raisons de notre choix d'une méthode de recalage. Il est difficile de conclure sur l'efficacité d'une méthode de détection automatique des cônes par rapport à une autre dans la mesure où elles fournissent toutes les deux de bons taux de détection (sensibilité) et que l'une présente des paramètres ajustables par l'opérateur [Loquin 2011] qui permettent de moduler le résultat de façon plus précise et l'autre non.

Dans le chapitre 3, nous étudions l'influence des différentes techniques de déconvolution sur la détection automatique avec la méthode de [Loquin 2011].

3. Etude et intégration de la variabilité temporelle de la réflectance des cônes dans la cartographie

La variabilité de l'imagerie des cônes est à la fois temporelle et spatiale. En effet, au cours de l'acquisition avec le RTX1, l'angle d'incidence du faisceau lumineux incident réglé par l'opérateur (section 1.2) a une influence sur la réflectance des cônes (effet Stiles-Crawford). Les deux variabilités - temporelle et spatiale - sont concomitantes et posent le problème de leur distinction dans toute la suite des travaux. La fréquence d'acquisition des images est de 9,5 Hz avec le RTX1. Au moment de l'acquisition, quarante images brutes sont acquises en 4,2 secondes et sont ensuite moyennées avant de renvoyer une image finale à l'opérateur. Dans cette partie, nous mettons en évidence que la variabilité temporelle de la réflectance des cônes est importante d'une acquisition à l'autre et aussi au cours de l'acquisition.

Pour l'analyse des images avec une méthode de détection automatique, il est nécessaire d'appliquer un prétraitement de déconvolution (section 3.1). Dans cette partie, nous présentons une étude sur l'influence de deux méthodes de déconvolution sur la détection automatique des cônes sur les images moyennées (section 3.1.1), puis sur des images brutes (section 3.1.2). Nous présentons ensuite une étude observationnelle de la variabilité temporelle de la réflectance des cônes (section 3.2), et enfin une méthode d'intégration de cette variabilité temporelle dans la construction de la cartographie des cônes (section 3.3).

3.1 Pré-traitement des images

3.1.1 Images moyennées

3.1.1.1 Procédure d'évaluation

Sur les images moyennées, un test d'évaluation a été réalisé pour comparer l'effet de la déconvolution myope [Blanco 2011] avec celui de la déconvolution gaussienne [Wendykier 2008] sur la détection des cônes avec l'algorithme présenté dans la section 2.2.2 [Loquin 2011]. Pour faire ce test d'évaluation, deux paramètres sont calculés : la sensibilité et le taux de faux positifs. Avant d'expliquer ce que sont ces mesures, il est important de définir une vérité terrain et une base de données.

- **Base de données**

Une base de données a été établie à partir de cinq images moyennées provenant de cinq sujets sains. Dans chaque image, cinq imageriettes de taille 48 x 48 microns ont été extraites. Des doublons ont été introduits pour tester la reproductibilité de la détection (par exemple, pour le patient 1, six imageriettes sont présentes dans la base de données, dont deux sont identiques). La base de données est ainsi composée de trente imageriettes (moyennées, et qui subiront une déconvolution gaussienne au moment de la détection manuelle par les médecins et au moment de la détection automatique) et les trente imageriettes correspondantes déconvoluées par la méthode myope [Blanco 2011].

- **La vérité terrain**

Les détections manuelles réalisées par les experts permettent de constituer une vérité terrain pour les mesures de sensibilité et de taux de faux positifs. Deux médecins ophtalmologues de l'Hôpital des XV-XX (Ieva Sliesorityte et Michel Paques) ont réalisé une détection manuelle des cônes sur la base de référence. Les médecins ont ainsi réalisé des détections manuelles sur des images ayant subi différents types de déconvolution : soit myope [Blanco 2011] soit gaussienne [Wendykier 2008]. Lors de la réalisation des comptages manuels par les deux experts, les imagerie leurs sont présentées de façon aléatoire. Nous considérons qu'un cône a effectivement été détecté si au moins un des deux experts l'a pointé. Une détection automatique des cônes selon la méthode de [Loquin 2011] a ensuite été appliquée à chaque imagerie.

- **La sensibilité**

La sensibilité est le pourcentage de cônes identifiés par l'algorithme qui font bien partie de la vérité terrain. Cela correspond au nombre de vrais positifs (VP) rapporté au nombre de cônes de la vérité terrain. La sensibilité est une valeur comprise entre 0 et 1. Une sensibilité nulle signifie qu'aucun des cônes de la vérité terrain n'a été détecté. Une sensibilité à 1 signifie que tous les cônes de la vérité terrain ont bien été identifiés. Autrement dit, la détection sera d'autant meilleure que la sensibilité sera grande et proche de 1.

- **Le taux de faux positifs**

Le taux de faux positifs est le nombre de cônes identifiés par l'algorithme sans contrepartie dans la vérité terrain, rapporté au nombre de cônes de la vérité terrain. Le taux de faux positifs est considéré comme une pseudo-spécificité. Dans notre contexte, la spécificité (indice le plus courant), telle qu'utilisée habituellement, ne peut être employée. En effet, dans le cadre d'un test, le calcul de la spécificité est basé sur le nombre de vrais négatifs (VN) qui est le nombre de cas où le test répond négativement de façon juste. Plus précisément, la spécificité est égale à $VN / (VN + FP)$, où FP est le nombre de faux positifs. Dans le cadre de la détection sur une image, le cas où la détection est « négative » est tout le domaine de l'image excepté les cônes détectés et les cônes de la vérité terrain. Dans ce cas, VN est très élevé comparé à FP et la spécificité, toujours très proche de 1, ne donne donc pas d'information significative. Le taux de faux positifs est une valeur positive et non bornée qui croît avec le nombre de faux positifs détectés. La détection est d'autant meilleure (en termes de pseudo-spécificité) que le taux de faux positifs sera bas et proche de 0.

Dans la *Figure 29*, un exemple de détections manuelles et automatiques est représenté pour les deux types de déconvolution (gaussienne [Wendykier 2008] et myope [Blanco 2011]).

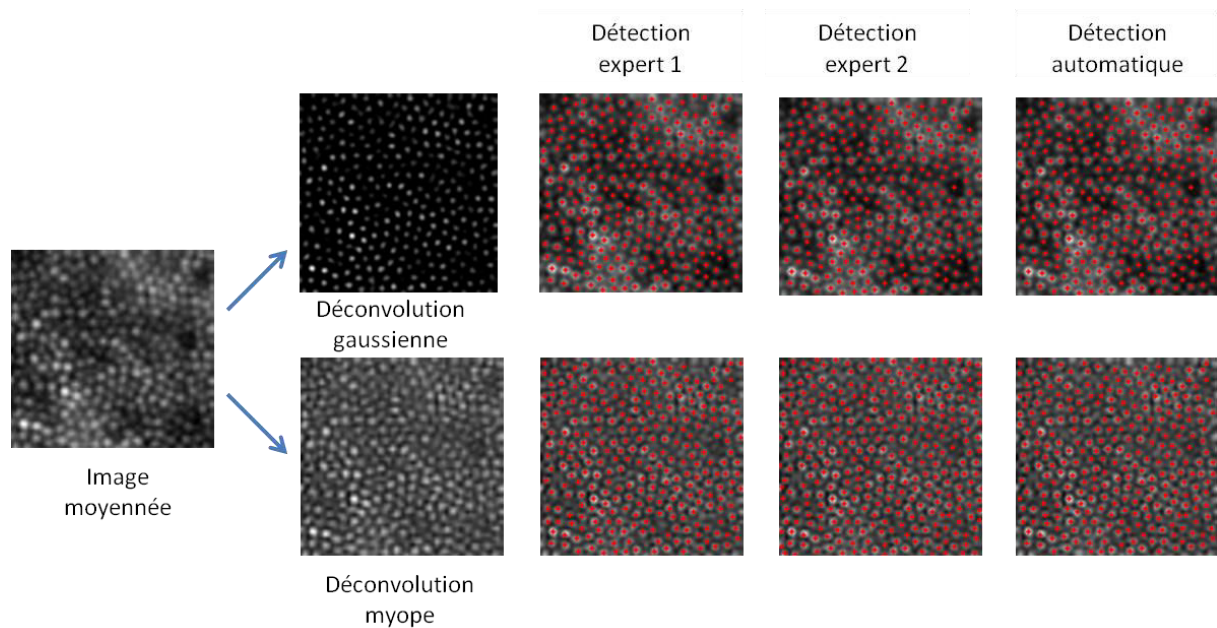


Figure 29 : Exemple de comptages manuels et automatiques sur une image moyennée (première image à gauche) et ses deux versions déconvoluées par les méthodes myope ou gaussienne.

Il peut y avoir un effet de bord entre la détection manuelle et la détection automatique. En effet, la détection automatique ne fonctionne pas sur les cônes à moitié visibles sur l'image, donc les cônes situés en bordure extrême de l'image ne sont pas détectés. Pour supprimer cet effet, les images sont recadrées en enlevant quatre pixels sur tous les bords après l'étape de détection automatique des cônes.

Afin de comparer les différents paramètres mesurés, nous avons suivi la procédure suivante pour le choix d'un test statistique. Nous nous sommes référés à l'ouvrage [Millot 2014] pour l'aspect théorique ainsi que pour la mise en pratique avec le logiciel R. La comparaison de deux moyennes observées peut se faire avec un test t à condition que les distributions suivent une loi normale. Nous avons donc appliqué un test de normalité (test de Shapiro) systématiquement pour savoir si c'était le cas. Si le test est positif, alors nous avons appliqué un test t de Student pour le cas où les variances sont égales, et un test t de Welch lorsque les variances sont différentes. Dans le cas où l'on souhaite comparer deux séries de valeurs appariées (cas de la comparaison de deux types de déconvolution), et lorsque le test de normalité était négatif, nous avons appliqué un test des signes de Wilcoxon permettant de comparer les médianes des deux groupes de valeurs. Ce dernier test est également adapté aux petits échantillons. Le principe de ces tests est rappelé dans l'annexe.

3.1.1.2 Résultats expérimentaux

Les résultats ont été regroupés en fonction de la qualité des images. Le *Tableau 1* indique les indices attribués aux imagerie. Dans chaque groupe de six imagerie, deux imagerie du groupe sont identiques. Par exemple pour le groupe des imagerie numérotées de 1 à 6, les imagerie 1 et 6 sont identiques.

Image	1	2	3	4	5
Imagerie	1-6	7-12	13-18	19-24	25-30

Tableau 1 : Numérotation des images dans la base de données.

La reproductibilité des détections manuelles intra-expert peut être considérée comme un indicateur de la qualité des images. Le taux de faux positifs étant faible en pratique (inférieur à 5% pour l'ensemble des doublons, voir *Figure 30*), nous proposons d'estimer cette reproductibilité comme la différence entre sensibilité et taux de faux positifs sur les imagerie identiques de la base de référence (*Figure 30*). Nous considérons que la qualité de l'image est d'autant meilleure que la variabilité intra-expert est faible. Pour calculer cette variabilité, on construit une vérité terrain correspondant à la détection réalisée par les experts à la première image du doublon. Ensuite, pour la deuxième image du doublon, la sensibilité et le taux de faux positifs sont calculés par rapport à cette vérité terrain, ce qui fournit une estimation de la variabilité intra-expert. Dans la *Figure 30*, les cinq images sont triées par qualité croissante. Nous avons fait ce classement pour les images déconvoluées avec la méthode gaussienne [Wendykier 2008] ou myope [Blanco 2011].

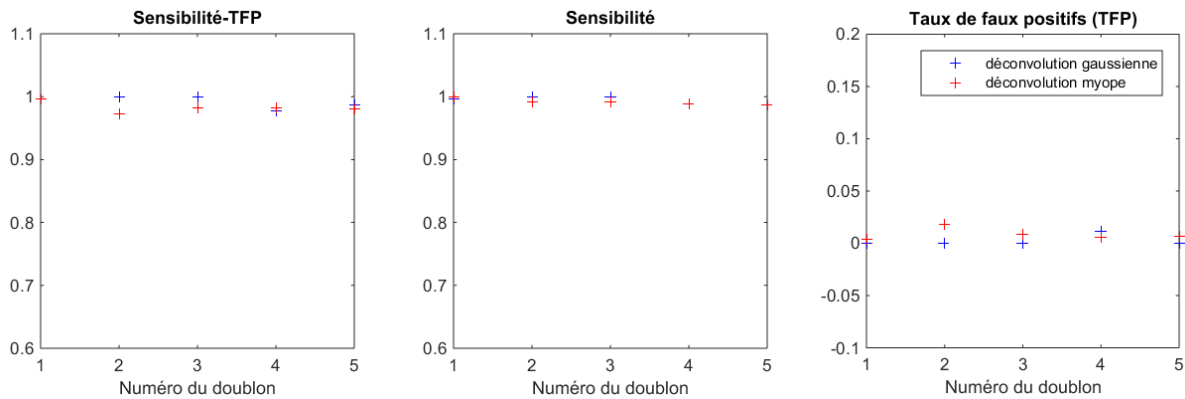


Figure 30 : Classement des images de la base de données en fonction de la qualité des images estimée par la reproductibilité intra-expert pour les deux types de déconvolution gaussienne [Wendykier 2008] ou myope [Blanco 2011].

Nous avons fait le choix arbitraire de retenir le classement obtenu sur les images avec déconvolution gaussienne (*Tableau 3*). Toutefois, la *Figure 30* montre que la qualité des images est sensiblement constante puisque la variabilité intra-expert ne varie que très peu d'une image à l'autre et ce, quel que soit le type de déconvolution utilisée. En effet la comparaison des différences moyennes obtenues entre sensibilité et taux de faux positifs pour les deux types de déconvolution fournit peu de différences d'après le *Tableau 2*.

Grandeur mesurée	Moyenne (déconvolution gaussienne)	Médiane (déconvolution gaussienne)	Moyenne (déconvolution myope)	Mediane (déconvolution myope)	Valeur de p (test des signes de Wilcoxon)
S-TFP	0,992±0,009	0,996	0,983±0,008	0,982	0,181
S	0,994±0,006	0,996	0,991±0,005	0,991	0,357
TFP	0,002±0,005	0	0,009±0,005	0,007	0,187

Tableau 2 : Résultats de comparaison des deux groupes de doublons pour les images moyennées.

De plus la qualité des images semble très élevée puisque la reproductibilité intra-expert est supérieure à 95 % pour toutes les imagerie testées.

Image	4	5	1	2	3
Imagerie	19-24	25-30	1-6	7-12	13-18

Tableau 3 : Résultat du classement par ordre de qualité croissant obtenu dans le cas de la déconvolution gaussienne, pour les images moyennées.

Afin de comparer objectivement les méthodes (déconvolution myope ou gaussienne), l'indice de tolérance de l'algorithme de détection des cônes (section 2.2.2) est choisi afin de minimiser la différence entre la vérité terrain et le résultat de détection automatique. Ces paramètres sont ajustés suivant (i) la minimisation du taux de faux positifs pour une sensibilité égale à 100%, (ii) la maximisation de la sensibilité pour un taux de faux positifs nul, (iii) la maximisation de la différence entre sensibilité et taux de faux positifs avec une sensibilité supérieure à 90%. Dans le cas des images ayant subi une déconvolution de type gaussien, un paramètre correspondant à l'écart type de la fonction d'étalement de point doit être ajusté (ce paramètre est généralement fixé à 3 dans le cas de cette base de données, pour avoir un niveau de détection optimal, voir *Figure 36*).

Dans les mesures du *Tableau 4*, on attribue de nouveaux indices aux imagerie en fonction du classement obtenu:

Image	4	5	1	2	3
Imagerie	1-5	6-10	11-15	16-20	21-25

Tableau 4 : Indices attribués aux imagerie à la suite du classement par ordre croissant des images moyennées.

(i) Taux de faux positifs minimal de la détection automatique pour une sensibilité de 100%

Dans la *Figure 31*, est représenté le taux de faux positifs minimum pour une sensibilité maximale de 100% dans le cas des deux méthodes de déconvolution. Le détail de ces résultats figure également dans le *Tableau 5*.

	im01	im02	im03	im04	im05	im06	im07	im08	im09	im10
déconvolution gaussienne	0,000	0,019	0,010	0,011	0,076	0,000	0,000	0,000	0,005	0,008
déconvolution myope	0,053	0,028	0,093	0,129	0,159	0,150	0,026	0,014	0,123	0,071

	im11	im12	im13	im14	im15	im16	im17	im18	im19	im20
déconvolution gaussienne	0,000	0,000	0,000	0,013	0,004	0,000	0,000	0,000	0,096	0,000
déconvolution myope	0,016	0,017	0,021	0,013	0,047	0,166	0,089	0,021	0,000	0,050

	im21	im22	im23	im24	im25
déconvolution gaussienne	0,017	0,019	0,038	0,012	0,010
déconvolution myope	0,012	0,289	0,137	0,000	0,026

Tableau 5 : Taux de faux positifs minimal de la détection automatique pour une sensibilité de 100%. Les résultats correspondant à une différence supérieure ou égale à 10% sont surlignés en jaune.

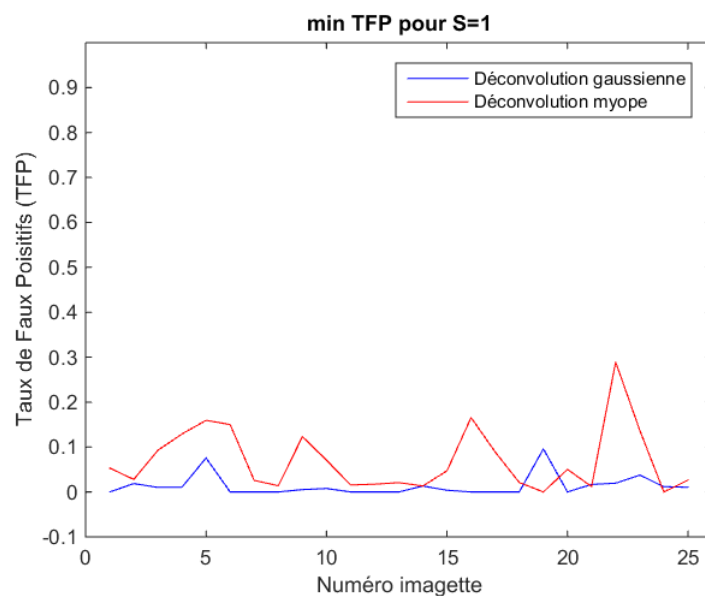


Figure 31 : Minimum de fausses détections pour une sensibilité de 100% dans le cas d'une déconvolution myope (courbe rouge) et dans le cas d'une déconvolution gaussienne (courbe bleue).

Pour une sensibilité de 100%, les taux de faux positifs (pseudo spécificité) sont plus élevés dans le cas des images ayant subi une déconvolution myope. Les taux de faux positifs observés sont en moyenne de $0,0135 \pm 0,0238$ (déconvolution gaussienne) et de $0,0704 \pm 0,0707$ (déconvolution myope). Les médianes observées sont de 0,005 (déconvolution gaussienne) et de 0,047 (déconvolution myope). Un test des signes de Wilcoxon [Millot 2014] a fourni un p de 0,0002. La différence des médianes entre les deux groupes est donc significative. Ainsi, pour une sensibilité de 100%, la déconvolution myope ne permet pas d'avoir le taux de faux positifs le plus bas.

(ii) **Sensibilité maximale de la détection automatique pour un taux de faux positifs nul**

Dans la *Figure 32* et le *Tableau 6*, est donnée la sensibilité maximale pour un taux de faux positifs nul pour les deux types d'images (déconvolution gaussienne ou myope). La sensibilité est toujours supérieure à 90% dans le cas des images ayant subi une déconvolution myope.

	im01	im02	im03	im04	im05	im06	im07	im08	im09	im10
déconvolution gaussienne	1,000	0,614	0,995	0,957	0,936	1,000	1,000	1,000	0,911	0,963
déconvolution myope	0,978	0,981	0,964	0,941	0,973	0,982	0,979	0,995	0,990	0,996

	im11	im12	im13	im14	im15	im16	im17	im18	im19	im20
déconvolution gaussienne	1,000	1,000	1,000	0,982	0,815	1,000	0,705	1,000	0,880	1,000
déconvolution myope	0,988	0,987	0,988	0,996	0,989	0,974	0,978	0,995	1,000	0,977

	im21	im22	im23	im24	im25
déconvolution gaussienne	0,939	0,643	0,856	0,895	0,823
déconvolution myope	0,988	0,984	0,954	1,000	0,984

Tableau 6 : Sensibilité maximale de la détection automatique pour un taux de faux positifs nul. Les résultats correspondant à une différence de sensibilité (entre les deux types de déconvolution) supérieure ou égale à 10% sont surlignés en jaune.

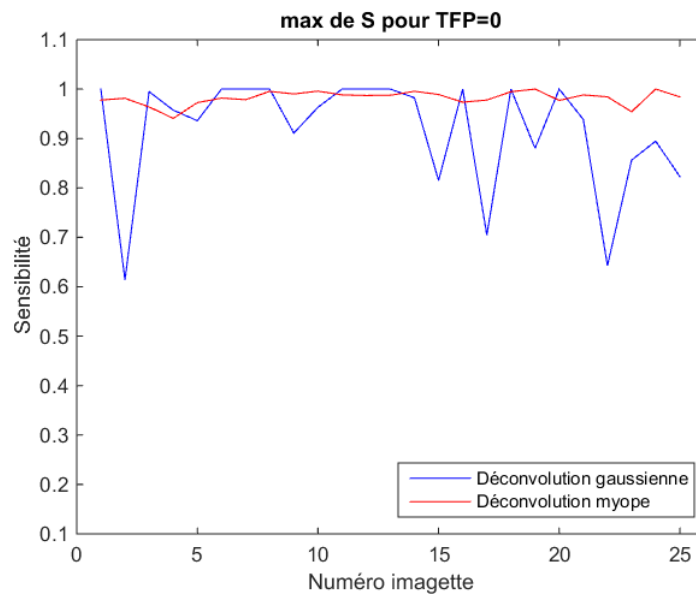


Figure 32 : Maximum de sensibilité de la détection automatique pour un taux de faux positifs nul, dans le cas des images ayant subi une déconvolution myope (courbe rouge) ou gaussienne (courbe bleue).

Pour un taux de faux positifs nul, les moyennes des sensibilités observées sont de $0,917 \pm 0,115$ (déconvolution gaussienne) et de $0,982 \pm 0,0138$ (déconvolution myope). L'écart type obtenu dans le cas des images avec déconvolution gaussienne est dix fois plus important que dans le cas des images avec déconvolution myope. La déconvolution myope permet donc d'avoir une meilleure sensibilité mais aussi une meilleure robustesse.

Les médianes respectives sont de 0,963 (déconvolution gaussienne) et 0,984 (déconvolution myope). Un test des signes de Wilcoxon [Millot 2014] a donné un p de 0,038. La différence entre les médianes des deux groupes est donc significative. Pour un taux de faux positifs nul, on a toujours une sensibilité supérieure à 90% dans le cas des images déconvoluées avec la méthode myope tandis que la sensibilité descend sous la barre des 70% dans certains cas pour la déconvolution gaussienne. Les sensibilités et taux de faux positifs sont ensuite comparés avec des paramètres qui maximisent la différence entre la sensibilité et le taux de faux positifs.

(iii) Maximum de différence entre sensibilité et taux de faux positifs

L'efficacité de la méthode peut être évaluée en fonction de sa capacité à obtenir une différence importante entre la sensibilité et le taux de faux positifs. Le résultat de cette mesure est donné par la *Figure 33* et le *Tableau 7*. Si les deux méthodes fournissent des valeurs de différences (sensibilité - taux de faux positifs) très proches, nous allons par la suite afficher les taux de sensibilité et taux de faux positifs correspondant pour voir si elles se comportent différemment. S'il n'y a pas de différence, les deux méthodes pourront être utilisées indifféremment dans le cas des images moyennées.

	im01	im02	im03	im04	im05	im06	im07	im08	im09	im10
déconvolution gaussienne	1,000	0,981	0,990	0,989	0,924	1,000	1,000	1,000	0,995	0,988
déconvolution myope	0,978	0,981	0,964	0,941	0,973	0,982	0,979	0,995	0,990	0,996

	im11	im12	im13	im14	im15	im16	im17	im18	im19	im20
déconvolution gaussienne	1,000	1,000	1,000	0,987	0,996	1,000	1,000	1,000	0,982	1,000
déconvolution myope	0,988	0,987	0,988	0,996	0,989	0,974	0,978	0,995	1,000	0,977

	im21	im22	im23	im24	im25
déconvolution gaussienne	0,983	0,981	0,963	0,988	0,990
déconvolution myope	0,988	0,984	0,954	1,000	0,984

Tableau 7 : Maximum de différence entre sensibilité et taux de faux positifs.

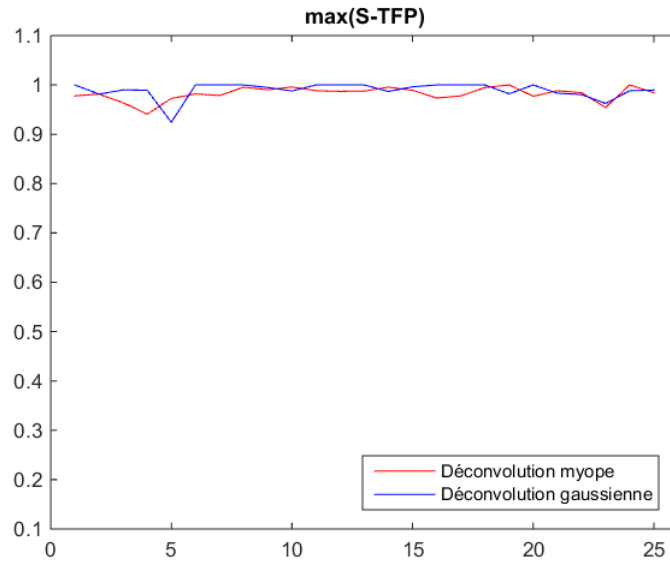


Figure 33 : Maximum de différence entre sensibilité et taux de faux positifs dans le cas des images ayant subi une déconvolution myope (courbe rouge) et gaussienne (courbe bleue).

Les moyennes sont de $0,989 \pm 0,0164$ (déconvolution gaussienne) et de $0,982 \pm 0,0139$ (déconvolution myope). Les médianes respectives sont de 0,995 (déconvolution gaussienne) et de 0,984 (déconvolution myope). Même si les résultats obtenus semblent proches d'après la Figure 33, il convient de remarquer que les valeurs sont souvent plus proches de 1 dans le cas de la déconvolution gaussienne. Un test des signes de Wilcoxon [Milot 2014] a fourni un p de 0,029 indiquant que les médianes des deux groupes sont significativement différentes.

Les Figure 34 et Figure 35 ainsi que les Tableau 8 et Tableau 9 présentent les sensibilités et taux de faux positifs correspondant à cette différence maximale.

	im01	im02	im03	im04	im05	im06	im07	im08	im09	im10
déconvolution gaussienne	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,990
déconvolution myope	0,978	0,981	0,964	0,941	0,973	0,982	0,979	0,995	0,990	0,996

	im11	im12	im13	im14	im15	im16	im17	im18	im19	im20
déconvolution gaussienne	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,990	1,000
déconvolution myope	0,992	0,987	0,992	0,996	0,989	0,974	0,978	0,995	1,000	0,977

	im21	im22	im23	im24	im25
déconvolution gaussienne	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
déconvolution myope	0,988	0,984	0,954	1,000	0,984

Tableau 8 : Sensibilité correspondant à la différence maximale entre sensibilité et taux de faux positifs.

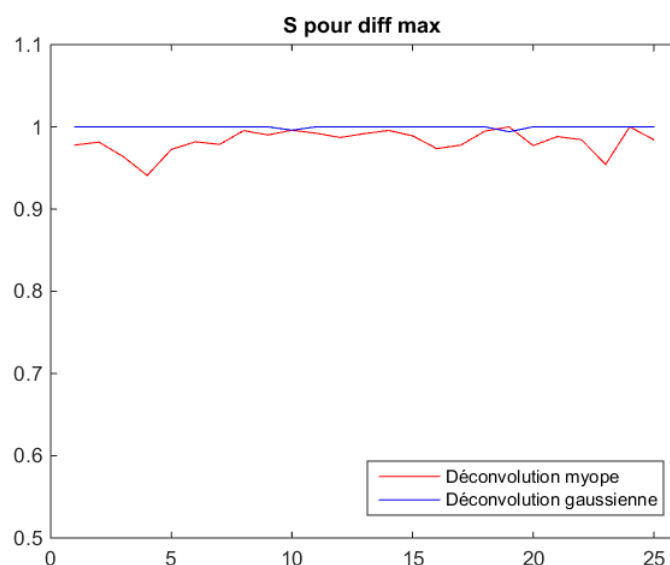


Figure 34 : Sensibilité qui maximise la différence entre sensibilité et taux de faux positifs dans le cas des images avec déconvolution myope (courbe rouge) et gaussienne (courbe bleue).

Pour une différence maximale entre sensibilité et taux de faux positifs, la sensibilité est légèrement supérieure dans le cas des images avec déconvolution gaussienne. Dans les deux cas, la sensibilité est toujours supérieure à 0,9. Les sensibilités sont sensiblement proches de 100%. Les moyennes respectives sont $1,00 \pm 1,53 \times 10^{-3}$ (déconvolution gaussienne) et $0,983 \pm 1,41 \times 10^{-2}$ (déconvolution myope). Les médianes correspondantes sont de 1,00 et 0,984. Un test des signes de Wilcoxon [Milot 2014] a donné un p de $4,11 \times 10^{-3}$, donc la différence de médiane entre les deux groupes est significative.

	im01	im02	im03	im04	im05	im06	im07	im08	im09	im10
déconvolution gaussienne	0,000	0,019	0,010	0,011	0,076	0,000	0,000	0,000	0,005	0,008
déconvolution myope	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

	im11	im12	im13	im14	im15	im16	im17	im18	im19	im20
déconvolution gaussienne	0,000	0,000	0,000	0,013	0,004	0,000	0,000	0,000	0,012	0,000
déconvolution myope	0,004	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

	im21	im22	im23	im24	im25
déconvolution gaussienne	0,017	0,019	0,038	0,012	0,010
déconvolution myope	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tableau 9 : Taux de faux positifs correspondant à une différence maximale entre sensibilité et taux de faux positifs.

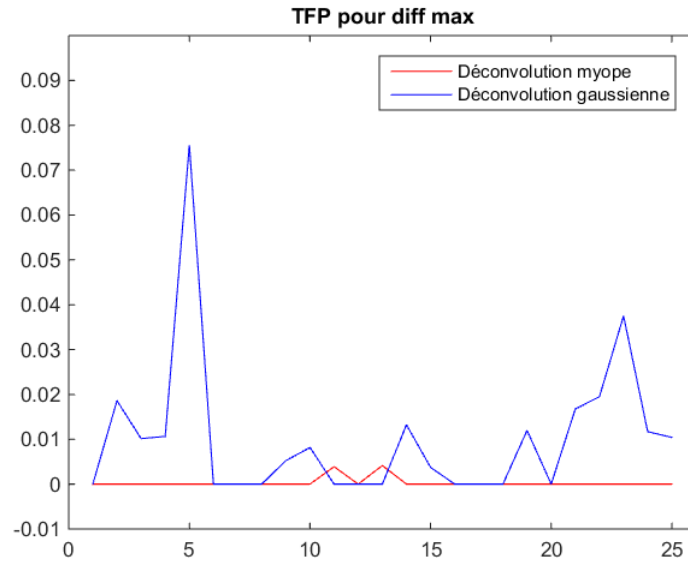


Figure 35 : Taux de faux positifs qui maximise la différence entre sensibilité et taux de faux positifs dans le cas des images avec déconvolution myope (courbe rouge) et gaussienne (courbe bleue).

Le taux de faux positifs est plus élevé (jusqu'à 8%) dans le cas des images avec déconvolution gaussienne contre un maximum de 0,5% pour les autres images. Les moyennes de taux de faux positifs observées sont $1,02 \times 10^{-2} \pm 1,65 \times 10^{-2}$ (déconvolution gaussienne) et $3,2 \times 10^{-3} \pm 1,11 \times 10^{-3}$ (déconvolution myope).

Un test t (test de welch, [Millot 2014]) a fourni un p de $1,01 \times 10^{-3}$ donc la différence de moyenne entre les deux groupes est significative. La déconvolution myope peut donc être intéressante pour diminuer le taux de faux positif avec un seuil de détection de plus de 98% en moyenne. Elle semble également plus robuste par rapport aux variabilités dans les images (écart type plus faible).

Dans cette partie, nous avons montré qu'il y a une légère amélioration de la robustesse de la méthode de détection avec la déconvolution myope par rapport à la déconvolution gaussienne (Figure 35). Toutefois, les résultats de détections (plus de 95%) et les taux de faux positifs très bas (moins de 8%) pour les deux méthodes de déconvolution sont acceptables d'un point de vue pratique, et les deux méthodes peuvent donc être utilisées indifféremment dans le cas de la détection sur des images moyennées de bonne qualité.

(iv) Influence du paramétrage dans le cas des images moyennées ayant subi une déconvolution gaussienne ou une déconvolution myope

Dans la partie (iv), sont présentées les mesures relatives à l'influence du paramétrage (indice de tolérance) sur les méthodes de détections automatiques pour les deux types de déconvolution.

La déconvolution gaussienne [Wendykier 2008] nécessite l'ajustement par l'opérateur du paramètre correspondant à l'écart type de la fonction d'étalement de point. La *Figure 36* montre l'influence de ce paramètre sur la détection pour différents indices de tolérance (paramètre ajusté par l'opérateur au moment de la détection automatique avec la méthode de [Loquin 2011]): 5, 10, 15, et 20 (de haut en bas). L'indice de tolérance a une plus forte influence que l'écart type de la fonction d'étalement de point sur le niveau de détection. En effet, le seul indice de tolérance (parmi les valeurs testées) qui permet d'avoir le plus haut niveau de différence entre sensibilité et taux de faux positifs est 10. Pour les autres indices de tolérance, 4 sujets sur 5 ont fourni des taux de faux positifs d'au minimum 20%, ce qui est très élevé et des sensibilités inférieures à 60%. Pour un indice de tolérance de 10, la valeur de sigma permettant de maximiser la différence entre sensibilité et taux de faux positifs est de 3.

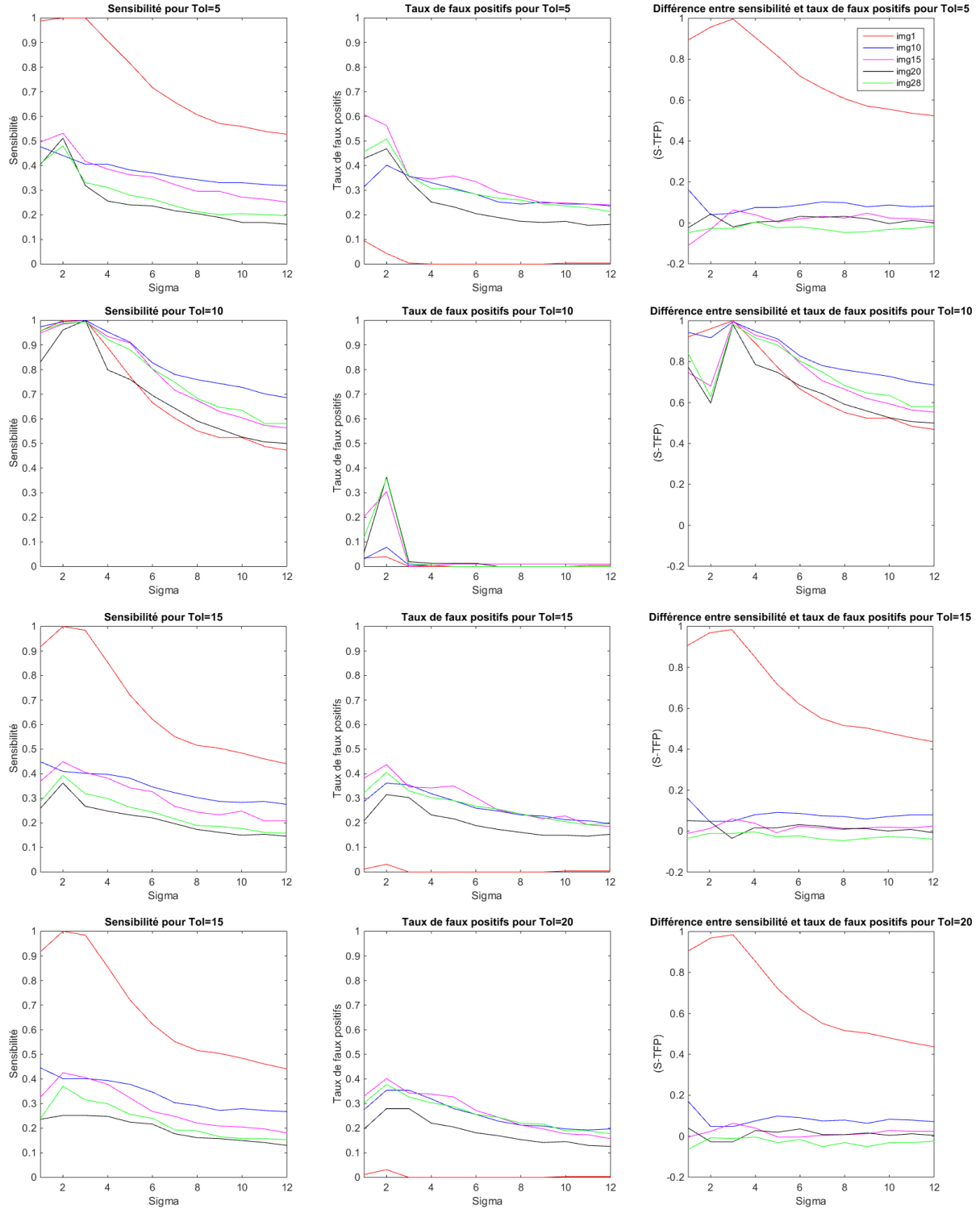


Figure 36 : Illustration de l'influence du paramétrage de la déconvolution gaussienne [Wendykier 2008] sur la détection automatique des cônes [Loquin 2011] dans le cas des images moyennées. Les tests ont été réalisés sur 5 images de la base de données, provenant de 5 sujets différents. De gauche à droite sont représentés la sensibilité de la détection, le taux de faux positifs et enfin l'écart entre ces deux valeurs en fonction de l'écart type « sigma » de la FEP pour différents indices de tolérance 5, 10, 15 et 20 (de haut en bas).

Dans la *Figure 37* sont représentés, pour les imagerie « im01 » et « im05 » de la base de données (choix arbitraire), les sensibilités et taux de faux positifs obtenus pour les différentes méthodes (déconvolution myope, déconvolution gaussienne (avec sigma fixé à 3) ou sans déconvolution) en fonction de l'indice de tolérance. Cela permet d'évaluer la sensibilité de la méthode par rapport à l'indice de tolérance de l'algorithme de détection.

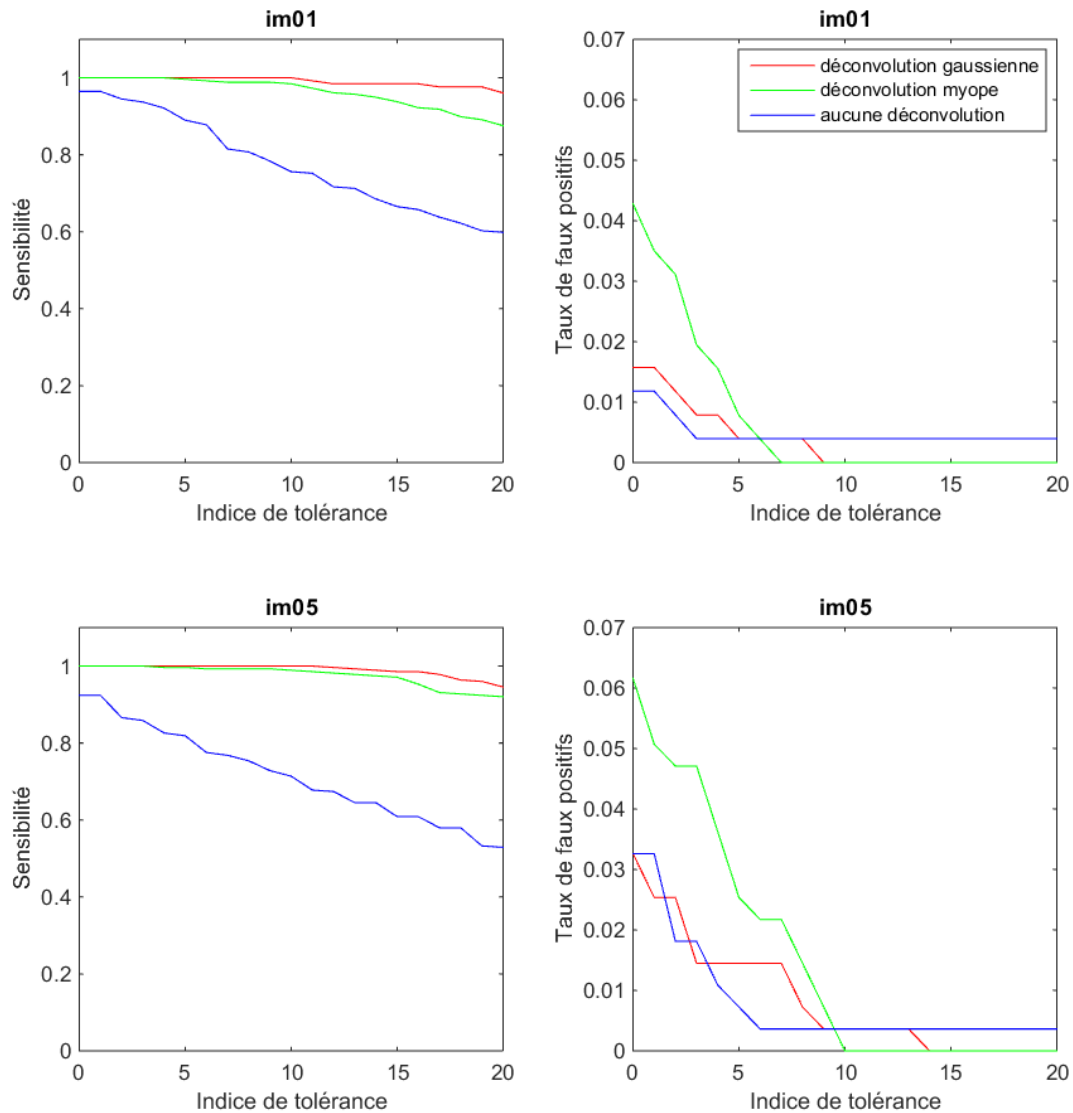


Figure 37 : Illustration de l'influence du paramétrage et des différentes méthodes de déconvolution sur la détection automatique des cônes avec la méthode de [Loquin 2011], exemple pour deux imagerie (im01 et im05). Les figures de gauche représentent la sensibilité de la détection des cônes en fonction de l'indice de tolérance tandis que les figures de droite représentent le taux de faux positifs en fonction de ce même paramètre.

La *Figure 37* montre que pour une image moyennée, le prétraitement par déconvolution (myope ou gaussienne) permet d'améliorer la sensibilité de la détection (courbes vertes et rouges). En effet, la sensibilité est non seulement plus importante, mais est également plus stable par rapport au paramétrage (pente des courbes vertes et rouges plus faibles que celle de la courbe bleue sur les figures de gauche). Pour un indice de tolérance inférieur à 10 la déconvolution myope donne plus de faux positifs que pour les autres

méthodes. En revanche, pour un indice de tolérance supérieur à 10, on obtient des taux de faux positifs négligeables pour la déconvolution myope, comme pour les autres méthodes.

Dans le cas des images moyennées avec peu de bruit, l'intérêt de la déconvolution myope est de diminuer le taux de faux positifs lors de la détection automatique des cônes (pour un indice de tolérance supérieur à 10), tout en augmentant la sensibilité. Le même bénéfice peut être obtenu en réalisant une déconvolution gaussienne. Les résultats indiquent les mêmes bénéfices entre déconvolution myope et déconvolution gaussienne. Ces observations peuvent également être faites sur les courbes ROC (*Figure 38*).

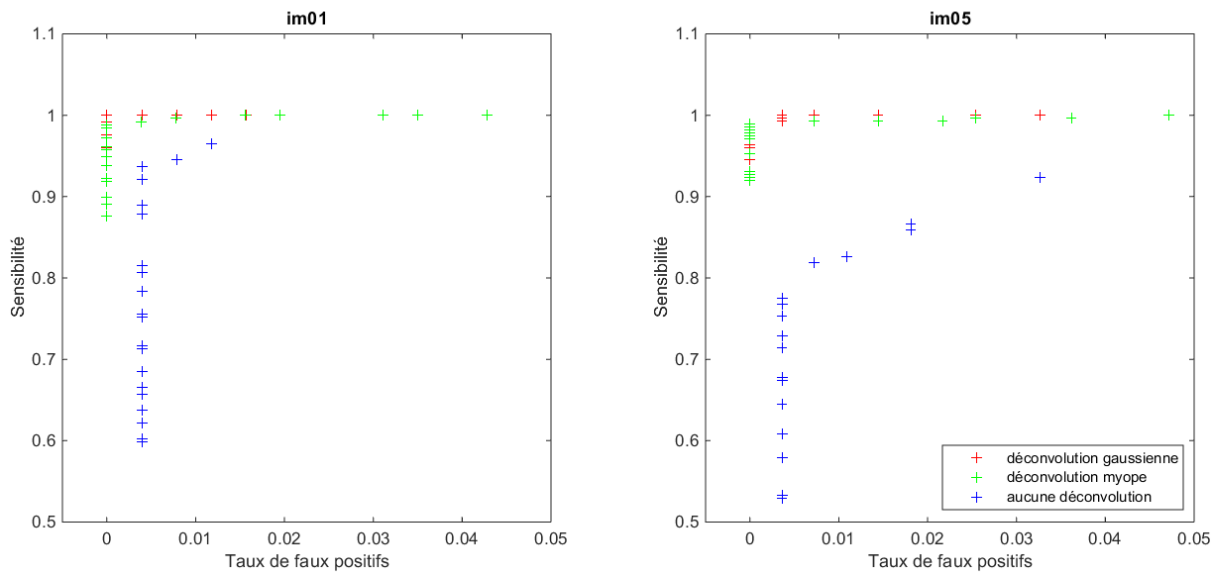


Figure 38 : Comparaison des courbes ROC pour les imagettes im01 et im05, en fonction des différentes méthodes de déconvolution. Le paramètre qui varie est l'indice de tolérance.

Pour conclure, la déconvolution permet d'améliorer la robustesse de la méthode de détection, dans le cas des images moyennées pour les deux types de déconvolution. Dans la partie suivante, il sera question du choix d'une méthode de déconvolution dans le cas des images brutes qui sont de bien moins bonne qualité que les images moyennées.

3.1.2 Images brutes

Dans un premier temps, des exemples de déconvolution et de détection automatique sont illustrés dans cette partie pour avoir un aperçu visuel des différences engendrées par les deux méthodes de déconvolution. Cette appréciation visuelle est importante dans la mesure où elle a une influence sur le déroulement de la détection automatique réalisée par un opérateur (voir le point « évaluation qualitative »).

Dans un second temps, le même test d'évaluation que dans la section 3.1.1, comparant les deux types de déconvolution, a été réalisé sur une base de données d'images brutes. La méthode est ensuite évaluée selon sa capacité à obtenir un écart maximal entre sensibilité et taux de faux positifs (voir le point « évaluation quantitative »).

- Evaluation qualitative

La déconvolution gaussienne appliquée aux images brutes est inadaptée pour ces images dans la mesure où, d'une part, elle introduit des artefacts pouvant être à tort considérés comme des cônes, et d'autre part, elle modifie radicalement l'aspect de la mosaïque des cônes empêchant ainsi l'objectivité de l'appréciation visuelle par le médecin. Des exemples de déconvolutions gaussiennes avec différents écarts types sont donnés dans la *Figure 39*.

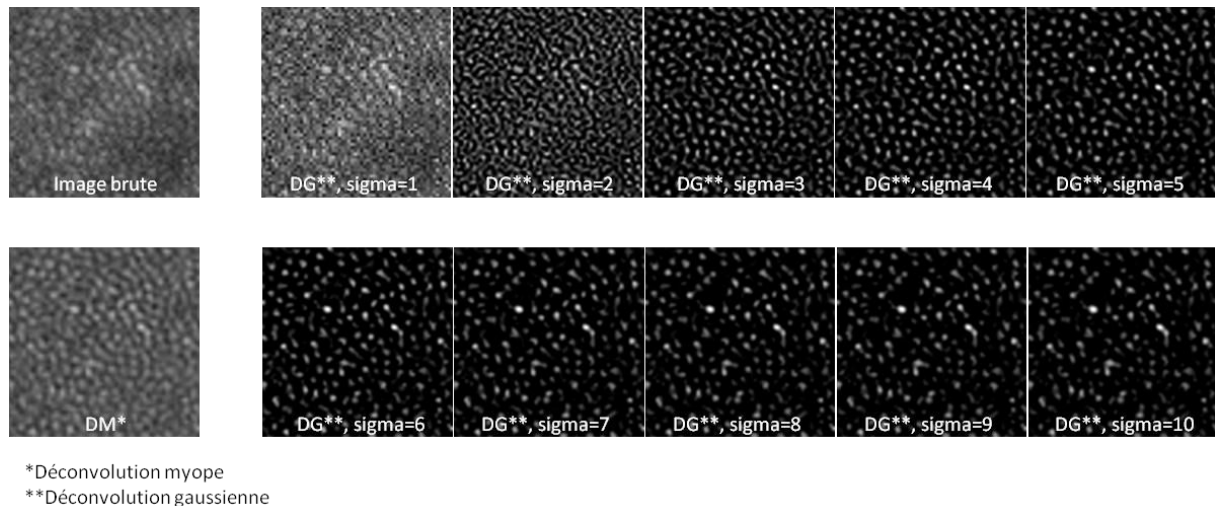


Figure 39 : Déconvolutions gaussiennes avec différents écarts types et déconvolution myope réalisées sur une image brute.

Les résultats de détection obtenus avec une déconvolution gaussienne d'écart type entre 3 et 5 peuvent être comparables à ceux obtenus avec une déconvolution myope, comme l'ont montré les tests de la section 3.1.1. Cependant, la déconvolution myope permet de fournir au médecin une image fidèle à l'apparence de la mosaïque des cônes de façon à ce qu'il puisse faire le comptage en distinguant plus clairement l'aspect d'un cône de celui d'un artefact.

Dans la *Figure 40* sont représentés des exemples de détections sur une image brute en fonction des deux types de déconvolution.

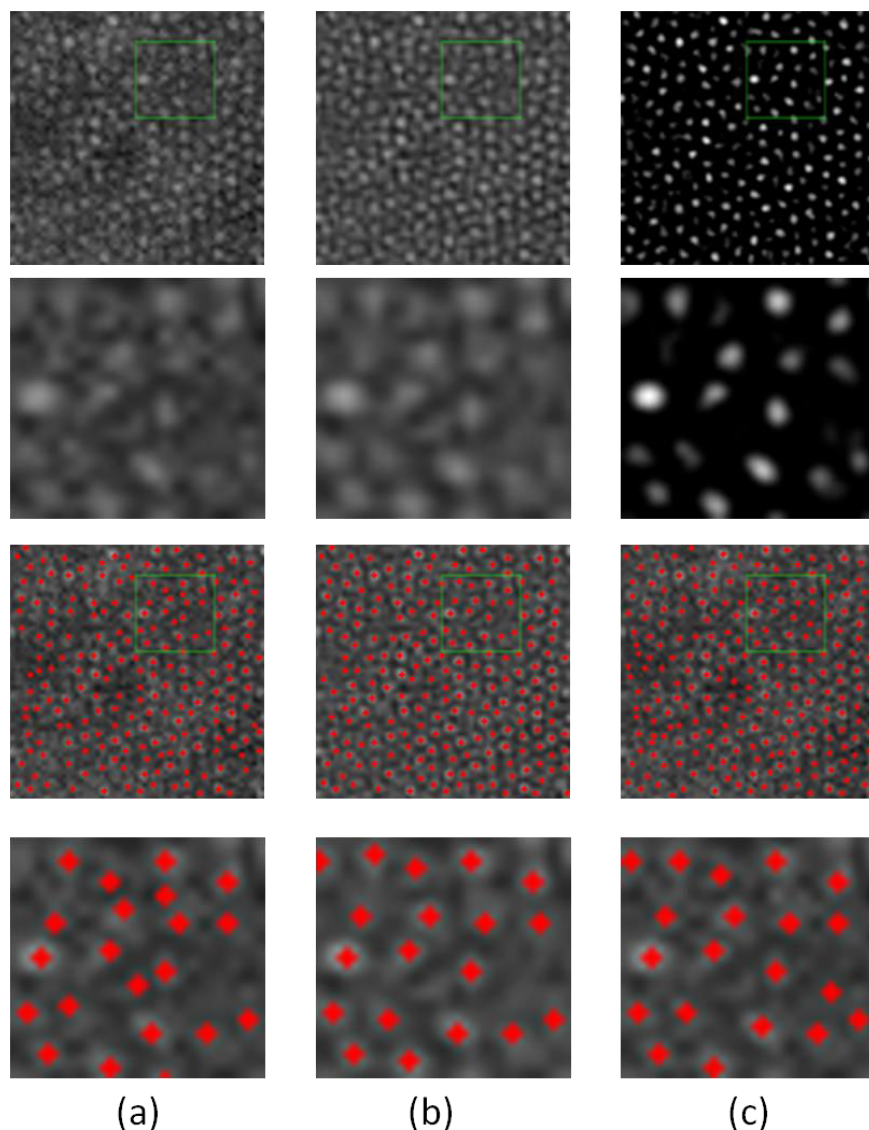


Figure 40 : Illustration des deux types de déconvolution et détection automatique [Loquin 2011] associée dans le cas d'une image brute. (a) image brute de référence ; (b) déconvolution myope ; (c) déconvolution gaussienne d'écart type 5. Les détections automatiques illustrées pour chaque type de déconvolution correspondent au même paramétrage (indice de tolérance 10). Imagettes 96x96 μm ; zoom 28x28 μm^2 .

La qualité visuelle de l'image brute semble nettement améliorée avec la déconvolution myope (colonne (b)), et les résultats de comptage plus fiables. La déconvolution gaussienne modifie considérablement la réflectance des cônes et crée des artefacts qui peuvent être faussement détectés. De ce fait, la réalisation d'une déconvolution gaussienne sur une image brute peut augmenter le nombre de fausses détections. Cela est d'autant plus vrai que l'image contient des ombres correspondant à des vaisseaux sanguins, comme l'illustre la Figure 41.

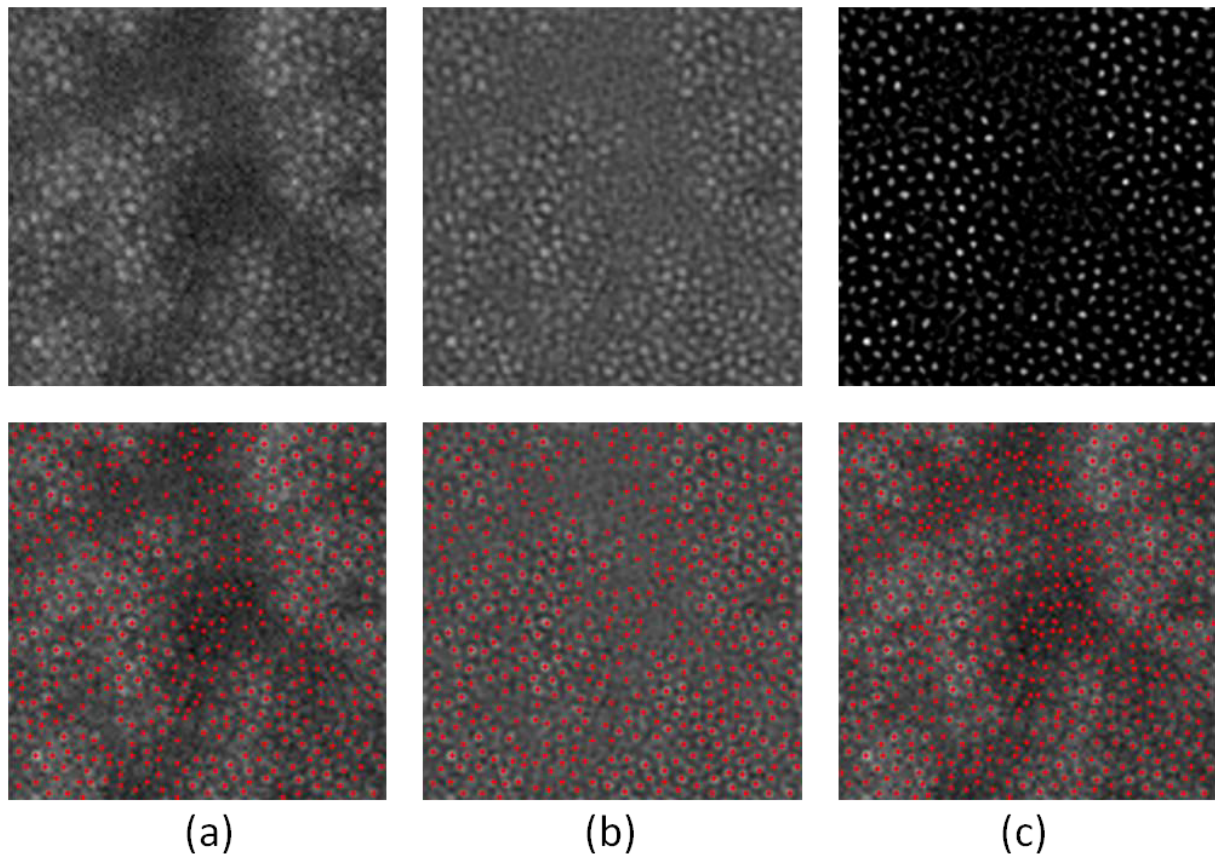


Figure 41 : Illustration de l'influence des deux types de déconvolution sur la détection automatique [Loquin 2011] sur une image brute contenant un vaisseau. (a) image brute de référence ; (b) déconvolution myope; (c) déconvolution gaussienne. Les détections automatiques illustrées pour chaque type de déconvolution correspondent au même paramétrage (indice de tolérance 10). Imagettes 96x96 μm^2 .

Dans la *Figure 41*, la déconvolution myope (colonne (b)) permet, pour un indice de tolérance de 10, d'obtenir moins de fausses détections au niveau des ombres des vaisseaux. Pour diminuer le nombre de ces fausses détections dans le cas d'une déconvolution gaussienne, il faut considérablement augmenter cet indice de tolérance, au détriment du niveau de bonnes détections dans l'image. L'intérêt de la déconvolution myope dans ce cas précis est de pouvoir converger plus rapidement vers un résultat de détection acceptable sans avoir à ajuster très longuement l'indice de tolérance. En effet, selon les experts, il ne doit pas y avoir de détection au niveau des ombres des vaisseaux, et les structures détectées comme étant des cônes doivent répondre à des caractéristiques anatomiques précises : forme ronde, diamètre de 5 microns en moyenne (correspondant à environ 6 pixels).

Pour conclure, la déconvolution myope sera d'autant plus utile sur les images très dégradées et s'avère indispensable pour analyser les images brutes. Une déconvolution gaussienne s'avère insuffisante pour améliorer la qualité de l'image brute et permettre son analyse. La déconvolution myope suivant la méthode de [Blanco 2011] décrite dans la partie 0 a été appliquée à chaque image brute car celle-ci permet à la fois d'améliorer la qualité des images mais également de limiter le nombre de fausses détections au niveau des ombres des vaisseaux.

- Evaluation quantitative

De la même manière que dans la section 3.1.1, une nouvelle base de données de soixante imagettes a été constituée à partir de cinq images de patients différents. La base de données contient trente imagettes (brutes, et qui subiront une déconvolution gaussienne au moment de la détection manuelle par les médecins et au moment de la détection automatique) et trente imagettes correspondantes ayant subi une déconvolution myope [Blanco 2011]. Dans chaque pile de trente imagettes, il y a cinq doublons, et cinq imagettes sur trente contiennent des ombres de vaisseaux.

Dans un premier temps, un classement des images a été effectué en calculant la différence entre sensibilité et taux de faux positifs sur les doublons pour les deux types de déconvolution. Les résultats sont donnés dans la *Figure 42*.

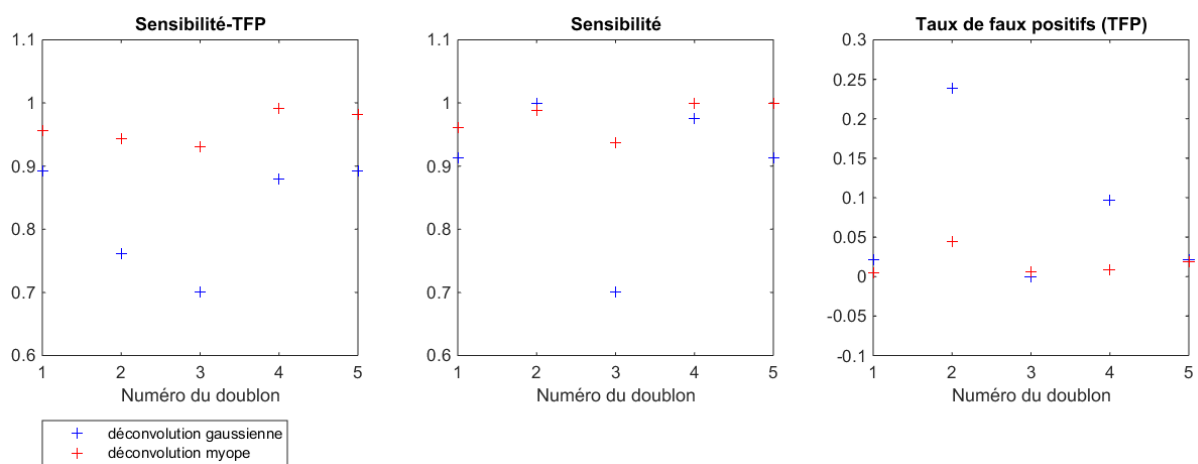


Figure 42 : Comparaison de la reproductibilité intra-utilisateur pour deux types de déconvolution myope ou gaussienne, dans le cas du comptage sur image brute.

La déconvolution myope semble diminuer la variabilité intra-expert avec une moyenne de $96 \pm 2,5$ % dans le cas de la déconvolution myope contre $82 \pm 8,8$ % dans le cas de la déconvolution gaussienne. Le test de Mann-Whitney-Wilcoxon ne montre pas de différence significative entre les différences (sensibilité – taux de faux positifs) moyennes observées pour les deux types de déconvolutions appliquées aux images brutes (*Tableau 10*).

Grandeur mesurée	Moyenne (déconvolution gaussienne)	Médiane (déconvolution gaussienne)	Moyenne (déconvolution myope)	Médiane (déconvolution myope)	Valeur de p (test des signes de Wilcoxon)
S-TFP	0,825±0,088	0,880	0,960±0,025	0,956	0,062
S	0,901±0,118	0,914	0,977±0,028	0,989	0,125
TFP	0,076±0,098	0,022	0,017±0,017	0,009	0,187

Tableau 10 : Résultats de comparaison des moyennes entre les deux groupes de doublons pour les images moyennées.

Nous avons fait le choix arbitraire d'utiliser le classement fourni par les mesures de variabilité intra-expert dans le cas de la déconvolution gaussienne (*Tableau 11*).

Image	3	2	4	1	5
Imagettes	11-15	6-10	16-20	1-5	21-25

Tableau 11 : Indices attribués aux imagettes à la suite du classement par ordre croissant des images moyennées.

Contrairement aux images moyennées, la comparaison des vérités terrains pour les deux types de déconvolution a permis de mettre en évidence une différence significative (Figure 43) avec une moyenne de cônes détectés de 120 ± 37 cônes (déconvolution gaussienne) contre 165 ± 43 cônes (déconvolution myope) et une valeur de p de $2,70 \times 10^{-4}$ (test de Welch, [Millot 2014]).

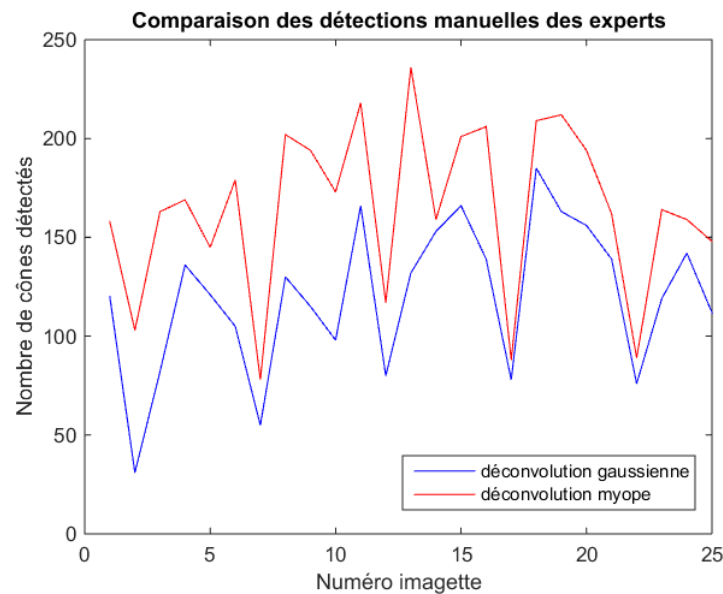


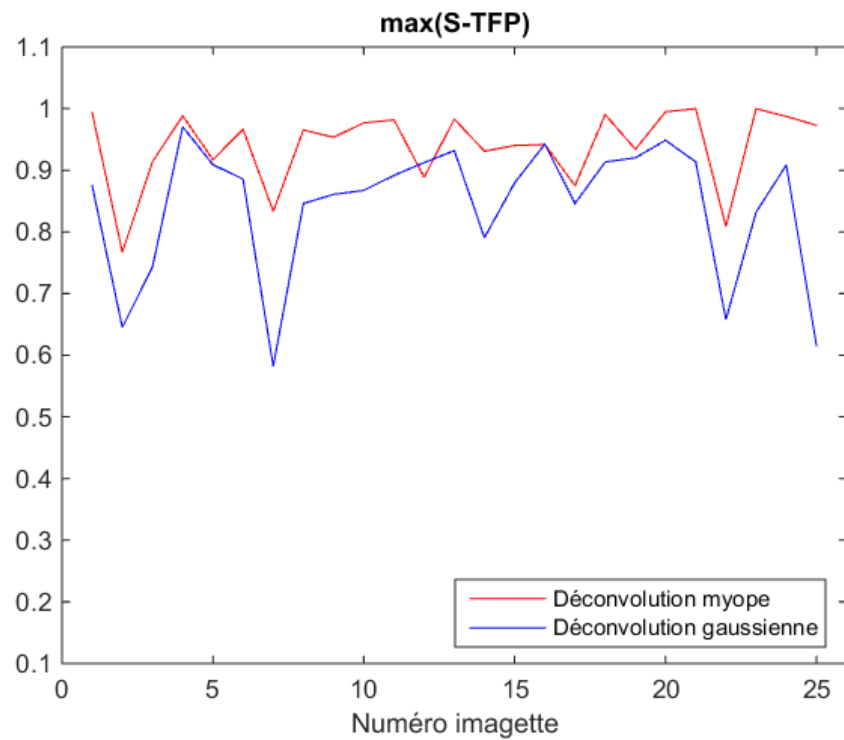
Figure 43 : Comparaison des vérités terrains pour les deux types de déconvolution : gaussienne (courbe bleue) ou myope (courbe rouge).

D'après la Figure 43, la courbe rouge représentant le nombre de cônes détectés par les experts dans les images avec déconvolution myope est toujours au-dessus de celle correspondant aux images avec déconvolution gaussienne. Ainsi la déconvolution myope permet d'augmenter le nombre de cônes détectés par les experts et montre de ce fait l'amélioration de la qualité de l'image. Nous considérons que les cônes pointés manuellement par les experts sont valides.

La robustesse des méthodes a également été évaluée en mesurant la différence maximale entre sensibilité et taux de faux positifs qu'il est possible d'obtenir. La Figure 44 illustre le résultat de ces mesures. Les Figure 45 et Figure 46 montrent les sensibilités et taux de faux positifs correspondant à cette différence maximale.

La différence maximale entre sensibilité et taux de faux positif obtenue est supérieure dans 23 cas sur 25 pour la déconvolution myope. Pour un seul cas où une valeur supérieure pour la déconvolution gaussienne est obtenue, les valeurs restent néanmoins très proches (imagette 12, valeurs surlignées en jaune dans le tableau de la Figure 44). Les moyennes obtenues sont de $0,84 \pm 0,11$ (déconvolution gaussienne) et $0,94 \pm 0,063$. Les médianes correspondantes sont respectivement de 0,88 et 0,94 et leur différence est significative avec une valeur de p de $3,22 \times 10^{-5}$ (test des signes de Wilcoxon).

DG*	DM**
0,875	0,994
0,645	0,767
0,744	0,914
0,971	0,988
0,909	0,917
0,886	0,967
0,582	0,833
0,846	0,965
0,861	0,954
0,867	0,977
0,892	0,982
0,913	0,889
0,932	0,983
0,791	0,931
0,880	0,940
0,942	0,942
0,846	0,875
0,914	0,990
0,920	0,934
0,949	0,995
0,914	1,000
0,658	0,809
0,832	1,000
0,909	0,987
0,616	0,973
0,844	0,940
0,110	0,063



* déconvolution gaussienne

**déconvolution myope

Figure 44 : Comparaison de la différence maximale entre sensibilité et taux de faux positifs pour les deux types de déconvolution gaussienne (courbe bleue) ou myope (courbe rouge).

DG*	DM**
0,942	0,994
0,968	0,922
0,878	0,963
0,985	0,988
0,992	0,945
0,952	0,983
0,927	0,936
0,939	0,985
0,948	0,979
0,949	0,983
0,946	0,991
0,963	0,940
0,970	0,992
1,000	0,962
0,946	0,970
0,993	0,966
0,936	0,932
0,957	0,995
0,963	0,962
0,974	0,995
0,957	1,000
0,829	0,888
0,916	1,000
0,958	0,987
1,000	0,980

* déconvolution gaussien

**déconvolution myope

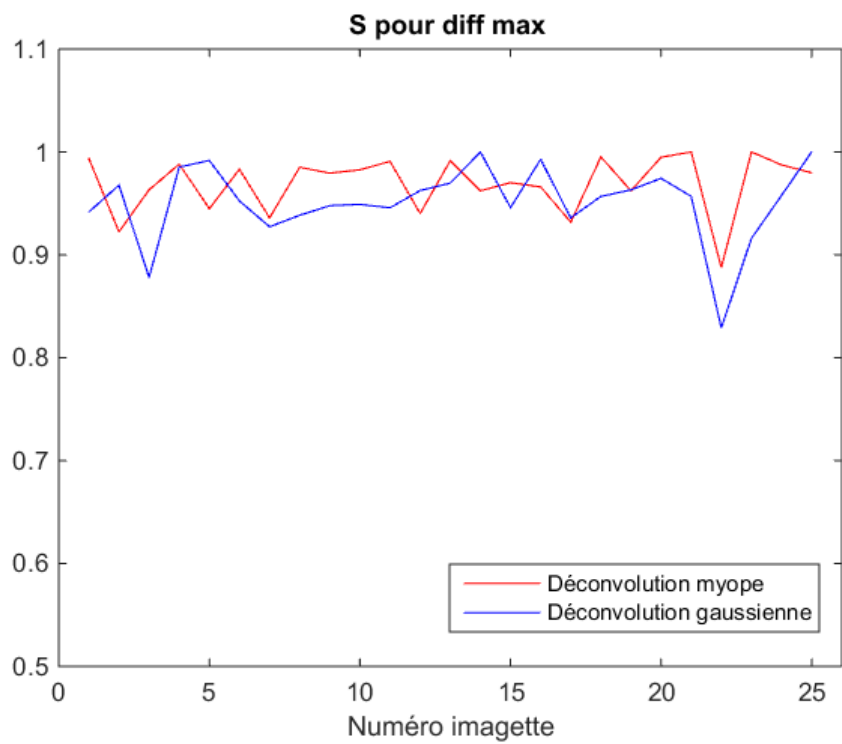


Figure 45 : Sensibilité correspondant à la différence maximale entre sensibilité et taux de faux positifs pour les deux types de déconvolution gaussienne (courbe bleue) ou myope (courbe rouge).

DG*	DM**
0,067	0,000
0,323	0,155
0,134	0,049
0,015	0,000
0,083	0,028
0,067	0,017
0,346	0,103
0,092	0,020
0,087	0,026
0,082	0,006
0,054	0,009
0,050	0,051
0,038	0,009
0,209	0,031
0,066	0,030
0,050	0,024
0,090	0,057
0,043	0,005
0,043	0,028
0,026	0,000
0,043	0,000
0,171	0,079
0,084	0,000
0,049	0,000
0,384	0,007

* déconvolution gaussienne
**déconvolution myope

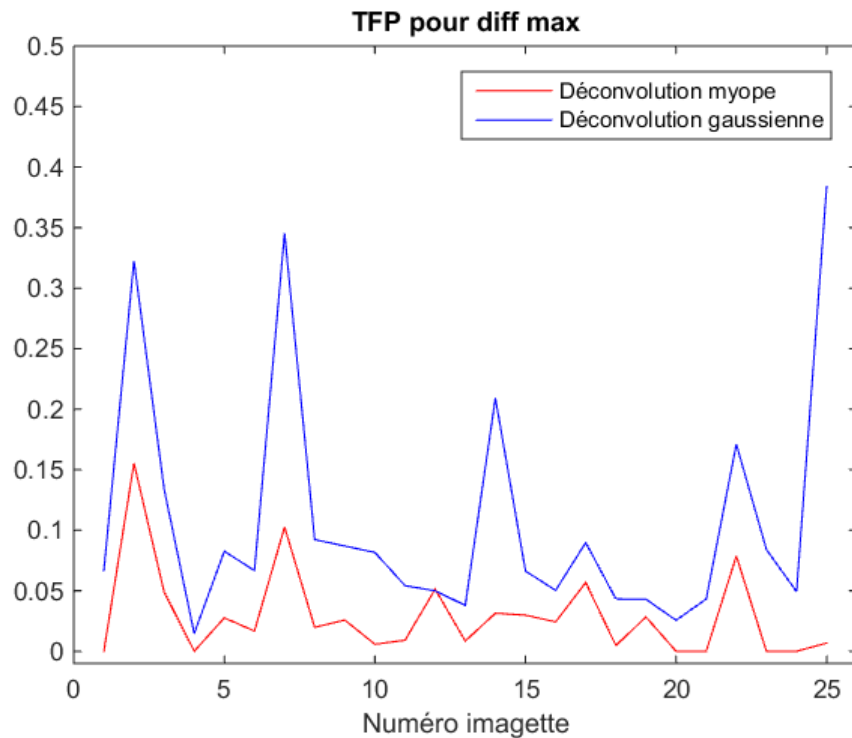


Figure 46 : Taux de faux positifs correspondant à la différence maximale entre sensibilité et taux de faux positifs pour les deux types de déconvolution gaussienne (courbe bleue) ou myope (courbe rouge).

Pour une différence maximale entre sensibilité et taux de faux positifs, les sensibilités correspondantes semblent assez proches : $0,961 \pm 0,037$ pour la déconvolution gaussienne et $0,969 \pm 0,028$ pour la déconvolution myope. Les médianes correspondantes sont respectivement de 0,067 et 0,020. Le test des signes de Wilcoxon a fourni une valeur de p de 0,032 indiquant une différence significative des médianes entre les deux groupes.

En revanche, les valeurs de taux de faux positifs sont nettement plus importantes dans le cas de la déconvolution gaussienne avec une moyenne de $0,107 \pm 0,101$ contre $0,029 \pm 0,037$ dans le cas de la déconvolution myope. La différence entre les deux groupes est significative avec une valeur de p de $1,19 \times 10^{-7}$. Donc la déconvolution myope permet de diminuer significativement le taux de faux positifs par rapport à la déconvolution gaussienne dans le cas des images brutes.

Pour conclure, dans le cas d'images fortement bruitées telles que les images brutes, la déconvolution myope permet à la fois d'augmenter la qualité des images en rendant les cônes plus nets, d'améliorer la reproductibilité intra-expert et la robustesse de la détection automatique. En pratique lorsque nous souhaitons travailler avec des images brutes, notamment pour étudier la variabilité temporelle des cônes, celles-ci sont systématiquement déconvoluées au préalable avec la méthode myope, avant d'appliquer l'algorithme de détection.

Dans le cas des images moyennées, la déconvolution gaussienne préalablement implémentée dans le logiciel de détection automatique avec la méthode [Loquin 2011] est utilisée pour des raisons pratiques (déjà implémentée dans le logiciel, temps de calcul court), et parce que nous avons vu que les résultats obtenus sont acceptables pour les deux types de déconvolution (malgré une légère amélioration de la robustesse avec la déconvolution myope). Dans le cas des images brutes, la déconvolution myope est systématiquement appliquée avant la détection ou tout autre procédure d'analyse des images (comparaison des niveaux de gris, recalage...).

3.2 Etude de la variabilité temporelle de la réflectance des cônes

Dans cette partie, la variabilité temporelle de la réflectance des cônes est étudiée sur des intervalles de temps divers sur des images moyennées mais également sur des images brutes déconvoluées avec la méthode myope.

Le niveau de gris des cônes dans les images d'OA est considéré comme un indicateur de la réflectance des cônes. C'est l'hypothèse de travail qui a été utilisée pour comparer la réflectance d'un cône d'une image à l'autre. Les images qui font l'objet d'une comparaison sont uniformisées en luminance (voir section 0).

Le recalage des images est réalisé avec la méthode de [Yang 2007] (section 2.2) : la transformation choisie est de type rigide (rotation + translation). La précision du recalage [Yang 2007] des images utilisées est inférieure à 1 pixel. En effet l'erreur quadratique moyenne (RMSE, fournie par le logiciel au moment du recalage) obtenue pour l'ensemble des images de la base de données utilisée est de $0,7 \pm 0,1$ pixel (moyenne des erreurs obtenues sur tous les recalages effectués pour la procédure d'évaluation).

Il existe une importante variabilité de la réflectance des cônes au cours du temps [Pallicaris 2003, Jungtae 2006, Ravi 2007]. Pour mettre en évidence cette variabilité, la réflectance des cônes a fait l'objet d'une observation sur différents intervalles de temps. Dans une première expérience, plusieurs acquisitions ont été effectuées à un instant t puis à un instant $t+24h$ (*Figure 47*), avec le même angle d'incidence pour éviter toute interférence avec l'effet Stiles-Crawford (section 1.3).

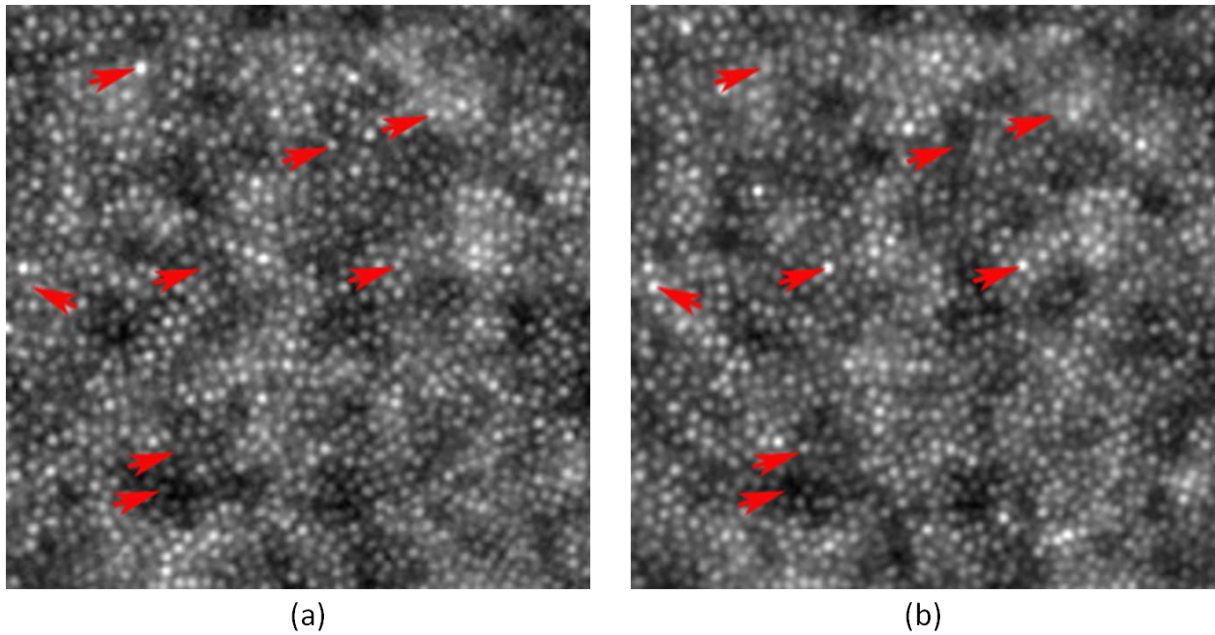


Figure 47 : Illustration de la variabilité temporelle de la réflectance des cônes sur un intervalle de 24 heures. Les images (a) et (b) ont été acquises avec le même angle d'incidence (« en face ») à 24 heures d'intervalle. Des exemples de cônes présentant des différences de réflectance sont pointés par des flèches. Images moyennées de taille 254x254 μm^2 .

D'après la *Figure 47*, un même cône n'a pas la même réflectance sur un intervalle de 24h. La variabilité temporelle a ensuite été observée sur des intervalles de temps plus courts. Les images de la *Figure 48* ont été prises à moins d'une minute d'intervalle. Sur ces images, un photorécepteur ne présente pas non plus la même réflectance apparente à moins d'une minute d'intervalle.

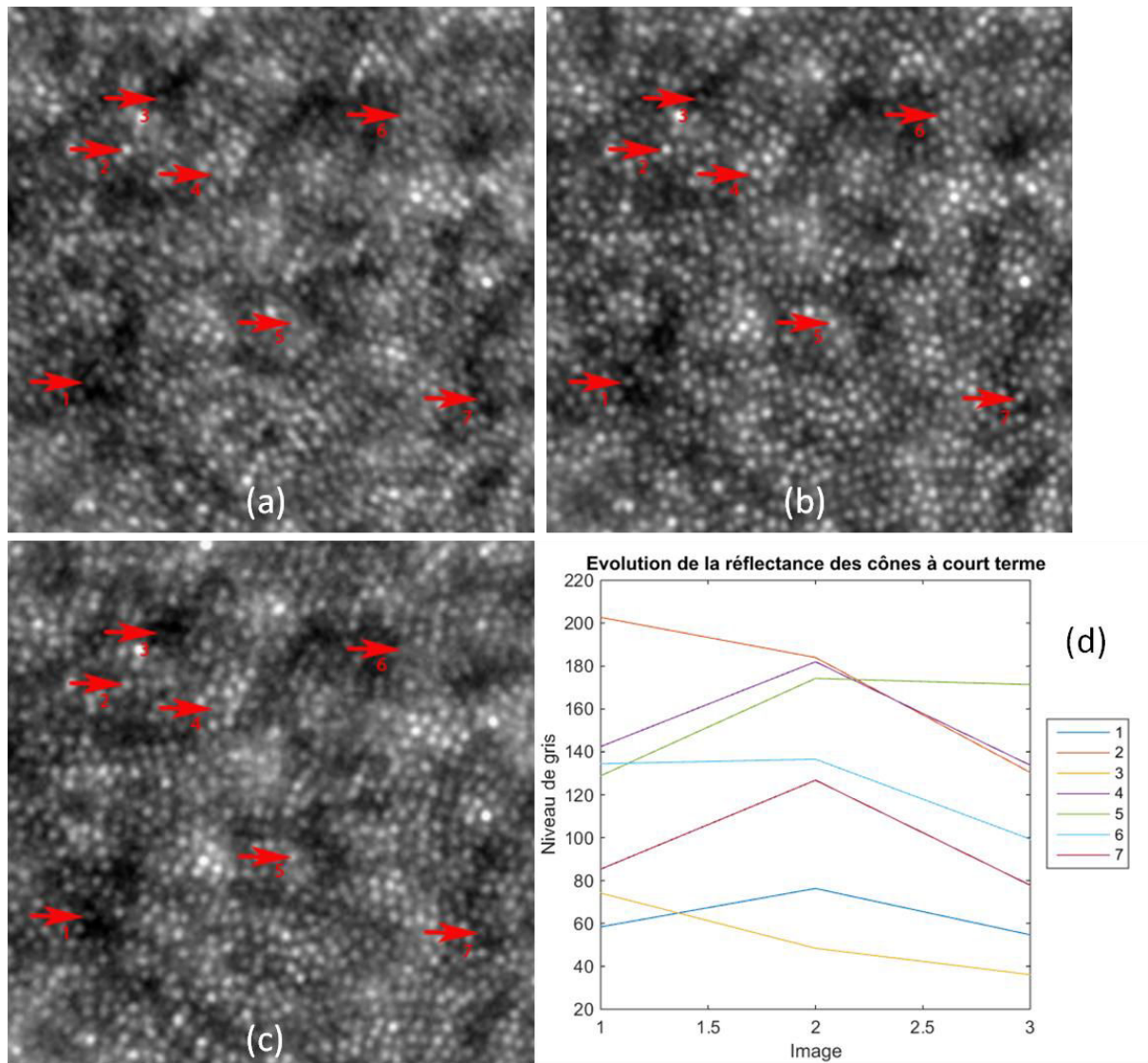


Figure 48 : Illustration de la variabilité temporelle des cônes à court terme (moins d'une minute); les images ont été prises dans l'ordre (a), (b) puis (c) à moins d'une minute d'intervalle. Les flèches permettent de distinguer quelques cônes d'intérêt dont la réflectance varie. Les niveaux de gris des cônes pointés dans les images sont représentés sur le graphique (d). Certains cônes ont un niveau de gris fortement atténué dans certaines images (cônes 1 et 2 fortement atténués dans (c) par exemple). Images moyennées de taille $170 \times 170 \mu\text{m}^2$.

L'intervalle minimal permettant de détecter cette variabilité n'a pas pu être évalué car la fréquence d'acquisition du RTX1 est limitée à 9,5 Hertz. Le même test que précédemment a été réalisé sur des images brutes acquises à $1/9,5$ seconde d'intervalle. Ces images ont eu un traitement supplémentaire de déconvolution myope avec la méthode de [Blanco 2011] pour faciliter l'analyse par détection automatique des cônes avec la méthode de [Loquin 2011]. Les résultats de ce test sont donnés dans la Figure 49.

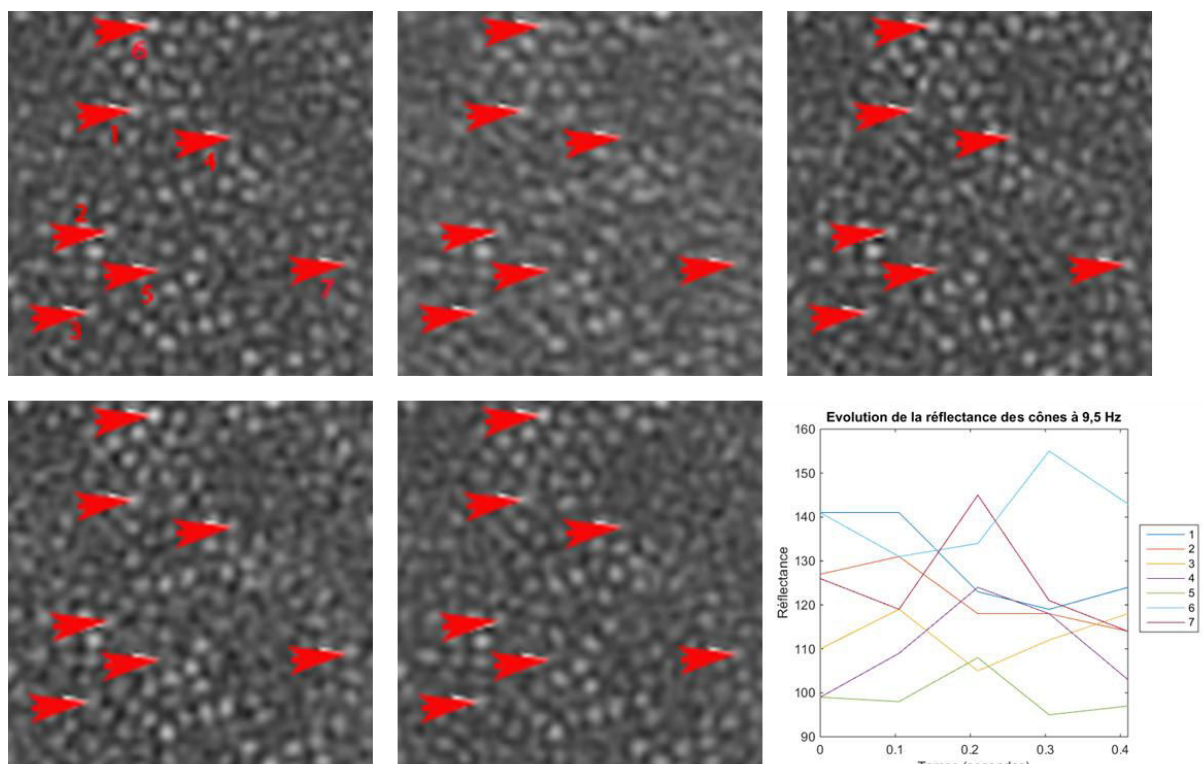


Figure 49 : Illustration de la variabilité temporelle des photorécepteurs à 9,5 Hz. Les flèches permettent de pointer quelques cônes présentant des variations de réflectance. Sur le graphique (en bas à droite) est présenté le niveau de gris de ces cônes. Images brutes déconvoluées de taille $97 \times 97 \mu\text{m}^2$.

La réflectance des cônes varie donc à au moins 9,5 Hz, et d'une façon très hétérogène d'un cône à l'autre. Ce scintillement a également été observé dans la littérature [Ravi 2007]. Il est important de tenir compte de ce phénomène de scintillement pour améliorer la détection et la cartographie des cônes.

De plus, ce changement de réflectance s'accompagne souvent d'un déplacement de centre optique et ce notamment pour les cônes les moins réflectifs. Ce déplacement apparent a été mesuré sur cinq couples d'images brutes provenant de cinq sujets différents. Pour réaliser cette mesure, ces images ont été déconvoluées avec la méthode de [Blanco 2011], recalées avec le logiciel i2k [Yang 2007], et la détection automatique avec la méthode de [Loquin 2011] a été appliquée à chaque image. Ensuite, chaque cône fait l'objet d'une recherche de son plus proche voisin dans l'image correspondante. La distance euclidienne entre les cônes est un paramètre à ajuster pour faire l'appariement.

Il est demandé à un médecin de valider, pour chaque couple d'images, un appariement parmi plusieurs propositions réalisées avec des seuils de distances (entre deux cônes à apparier) différents allant de 1 à 4 pixels. Ce seuil correspond à la distance maximale entre un cône d'une image et son plus proche voisin dans une autre image nécessaire pour que ceux-ci soient appariés. L'appariement peut se faire de façon entièrement manuelle, mais cette solution a été proposée au médecin pour alléger sa charge de travail. Lorsque le médecin a sélectionné les appariements valides, les distances euclidiennes entre les cônes appariés sont calculées. Le déplacement maximal de centre optique mesuré est de 2,9 microns (soit 3,6 pixels).

Ce déplacement est inférieur à la distance minimale inter-cônes calculée au moment de la détection automatique des cônes. La *Figure 50* montre un exemple de couple d'images utilisé. Les résultats d'appariement pour ce couple d'images selon les différents seuils sont donnés en *Figure 51*.

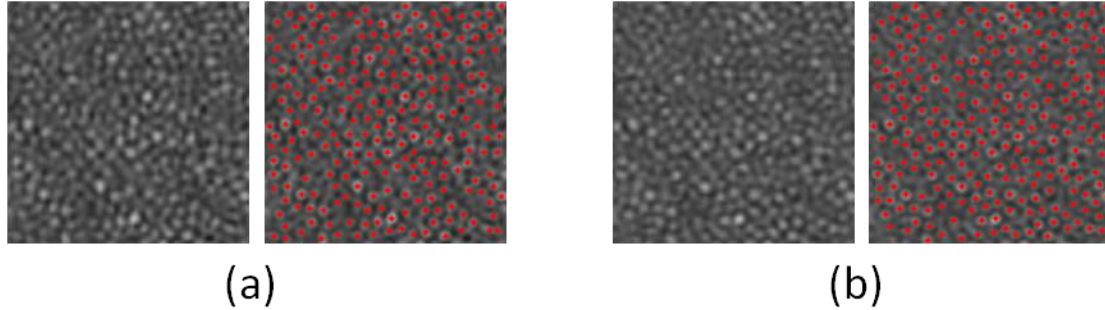


Figure 50 : Exemple de couple d'images brutes déconvoluées avec la méthode de [Blanco 2010] (a) et (b) avec les détections automatiques réalisées avec la méthode de [Loquin 2011].

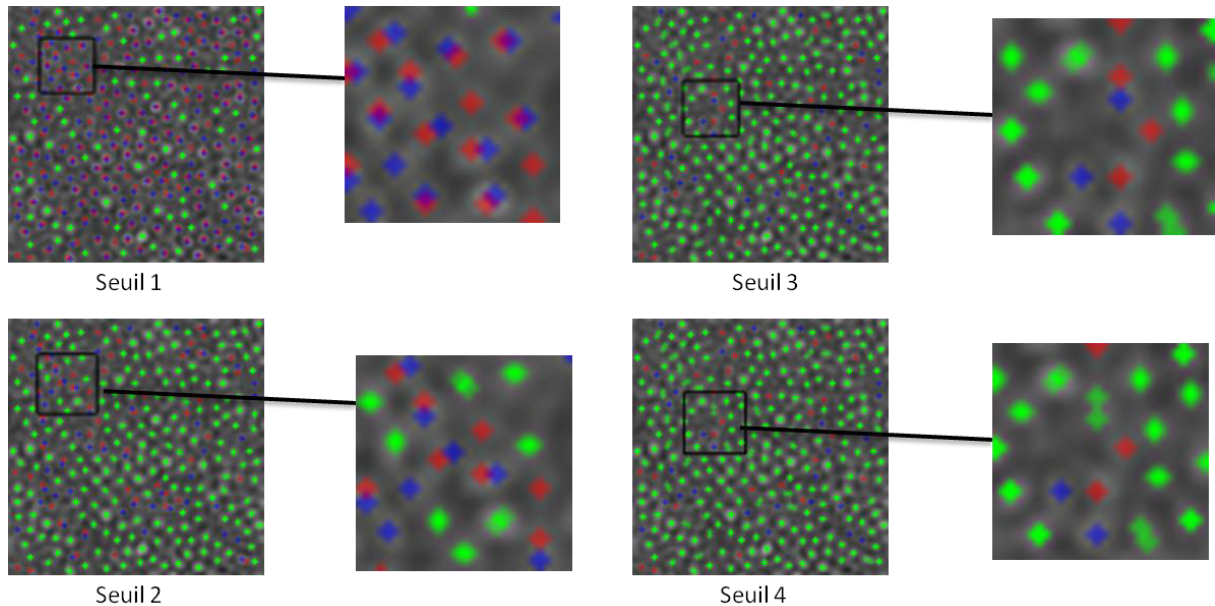


Figure 51 : Résultats d'appariements en fonction de différents seuils allant de 1 à 4. Les images affichées intègrent les positions des cônes détectés dans les 2 images de la Figure 50 avec les codes de couleur suivants : les croix vertes sont des cônes appariés avec leurs plus proches voisins. Les cônes bleus et rouges correspondent à des cônes non appariés. Les zones agrandies pour les seuils 1 et 2 sont les mêmes. Idem entre les seuils 3 et 4.

Le seuil 1 donne un appariement des cônes dont la position dans les deux images est fixe (qui ne présente aucun déplacement de centre optique). Les appariements ayant été validés par l'expert correspondent aux seuils 4 pour quatre sujets sur cinq et 5 pour l'un des sujets. En effet notre expert a estimé que certains cônes étaient trop proches pour être distincts dans les résultats d'appariements avec les autres seuils proposés. Ainsi, le choix d'un seuil correspondant à la distance minimale inter-cônes permet d'apparier les cônes qui, d'une image à l'autre, ont la position de leur centre optique déplacée, puisque ce déplacement est inférieur au seuil choisi. La *Figure 52* représente le pourcentage de cônes appariés dans chaque couple d'images (correspondant à un sujet) en fonction du seuil choisi. Plus ce

dernier est grand, plus le pourcentage de cônes appariés augmente. Les choix de seuil de l'expert sont surlignés en jaune dans le *Tableau 12*.

seuil	sujet 1	sujet 2	sujet 3	sujet 4	sujet 5
1	0,30	0,29	0,10	0,16	0,13
2	0,79	0,87	0,57	0,67	0,60
3	0,88	0,94	0,71	0,78	0,78
4	0,89	0,96	0,76	0,82	0,85
5	0,91	0,97	0,79	0,84	0,89
6	0,93	0,98	0,88	0,88	0,93
7	0,95	0,98	0,90	0,90	0,94
8	0,95	0,99	0,91	0,91	0,95
9	0,95	0,99	0,91	0,93	0,96
10	0,95	0,99	0,91	0,93	0,96
11	0,95	0,99	0,91	0,93	0,96
12	0,95	0,99	0,91	0,93	0,96
13	0,95	0,99	0,91	0,93	0,96
14	0,95	0,99	0,91	0,93	0,96
15	0,95	0,99	0,91	0,93	0,96

Tableau 12 : Résultats de mesure du pourcentage de cônes appariés en fonction du seuil chez les différents sujets.

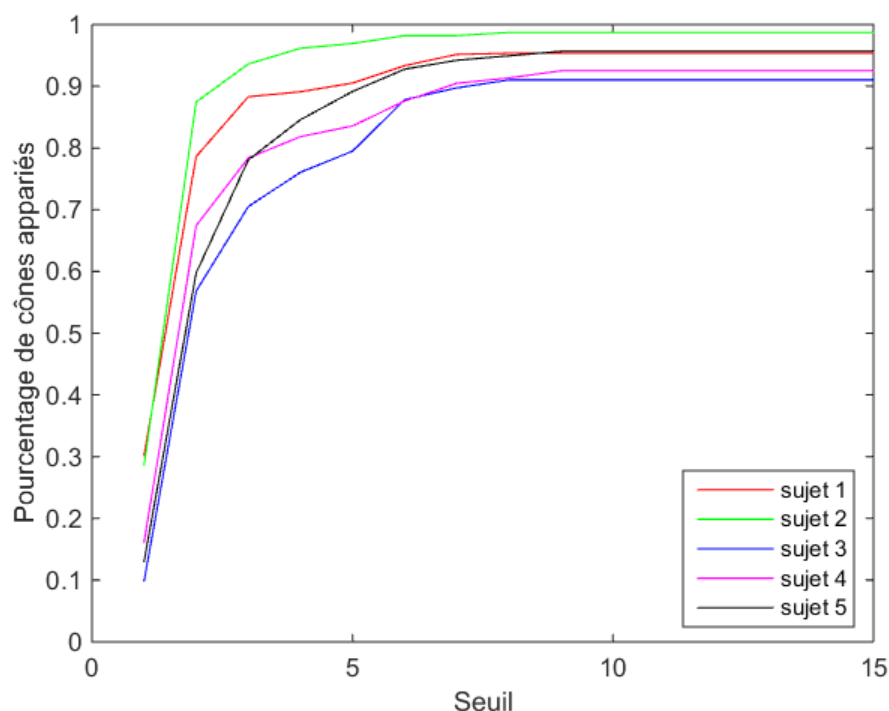


Figure 52 : Evolution du pourcentage de cônes appariés en fonction du seuil choisi pour l'appariement des cônes.

D'après les experts, les seuils 4 et 5 correspondent au choix permettant de limiter le nombre de faux appariements. En effet, il est logique que plus ce seuil est élevé, plus le nombre d'appariement dans l'ensemble de l'image sera important mais au détriment de la réalité. L'objectif n'est pas d'obtenir un pourcentage d'appariement important mais de définir une valeur pour le seuil qui permet de faire des appariements qui ont un sens par rapport à la réalité.

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer le phénomène de « scintillement » :

- Un bruit lié à la machine. Ce phénomène de scintillement a également été observé sur des cellules autres que les photorécepteurs, notamment les points de Gunn [Paques 2015], comme l'illustre la *Figure 53*. Cela suggère qu'il pourrait s'agir d'un phénomène non biologique. Dans les images de fond d'œil sains, ils correspondent à des points blanchâtres étincelants, visibles surtout chez les sujets jeunes. Ils sont généralement attribués à la réflectance des palettes des cellules de Müller. Ils sont fréquemment observés dans la moyenne périphérie, même si certains ont été détectés dans la macula.

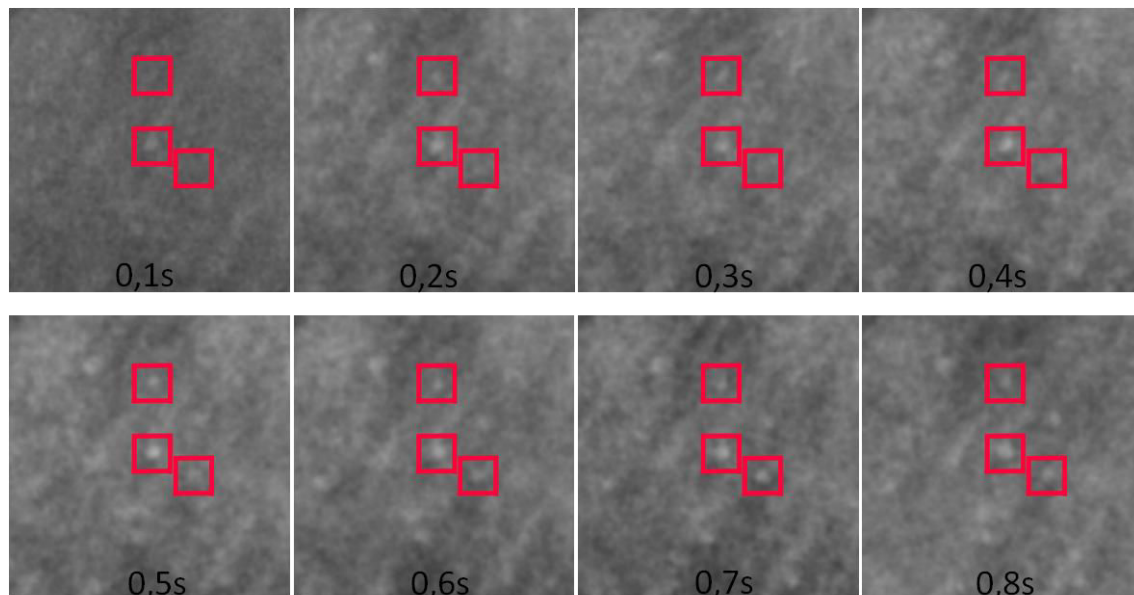


Figure 53 : Illustration du « scintillement » dans le cas des points de Gunn. Images brutes déconvoluées avec la méthode de [Blanco 2011], de taille 325x329 μm^2 .

- Un phénomène biologique propre aux photorécepteurs. Il pourrait par exemple exister un mouvement photomécanique des photorécepteurs (non décrit chez l'homme). Ce phénomène ayant été observé à la fois chez les sujets sains et pathologiques, il n'est donc pas lié à une pathologie particulière.
- La circulation sanguine pourrait jouer un rôle. En effet, les vaisseaux sanguins se situent entre la couche de photorécepteurs et la caméra, donc pour le vérifier, il faudrait pouvoir observer ce phénomène dans la fovéa dépourvue de vaisseaux sanguins. La résolution ne permet pas d'observer les cônes dans la fovéa car leur taille

est beaucoup plus réduite qu'en périphérie. Toutefois il a été possible d'en observer quelque uns dans la fovéa chez un sujet pathologique dont les cônes ont anormalement pris du volume, et ils sont également concernés par le scintillement comme le montre la *Figure 54*. Ainsi il est peu probable que la circulation sanguine soit la cause principale de ce scintillement observé des cônes.

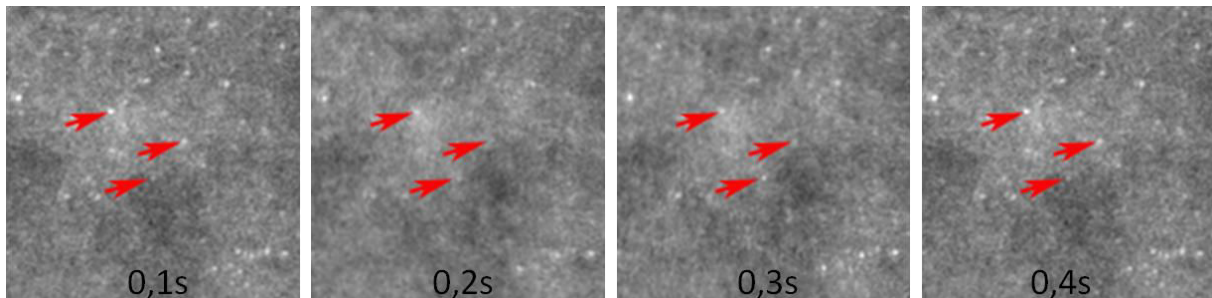


Figure 54 : Illustration du scintillement des cônes dans la fovéa. Images brutes de taille 120x120 μm^2 .

- Des interférences possibles entre les lumières réfléchies par la couche des segments externes et par les couches qui se trouvent à proximité, couplées à des modifications des chemins optiques des ondes réfléchies d'après [Ravi 2007].

Quelle que soit l'origine de ce phénomène de scintillement, biologique ou technologique, l'objectif de cette étude n'est pas de quantifier ou d'étudier très précisément ce phénomène mais plutôt d'en tenir compte dans la procédure de cartographie des cônes.

3.3 Méthode d'intégration de la variabilité temporelle de la réflectance des cônes dans la cartographie

3.3.1 Méthode

La variabilité temporelle de la réflectance des cônes, correspondant à l'effet de scintillement, est un phénomène dont il faut tenir compte pour améliorer la cartographie des cônes. La moyenne des images brutes réalisée au moment de l'acquisition aboutit à une forte atténuation des cônes les moins réfléchissants dans l'image finale. C'est la raison pour laquelle il est préférable de réaliser les comptages directement sur les images brutes, puis de les fusionner. Dans cette partie, la méthode mise en place pour parvenir à faire la première étape d'intégration de la variabilité temporelle est présentée. Le principe général est de recréer une cartographie virtuelle à partir d'une fusion des informations obtenues par comptage des cônes directement dans les images brutes déconvoluées. L'algorithme de fusion des comptages sur les images brutes déconvoluées repose sur deux étapes : la recherche d'appariements possibles et l'intégration des informations dans une carte.

1. La recherche des appariements possibles sur deux images:

Il s'agit de parcourir l'ensemble des points des images et d'identifier les cônes qui peuvent être appariés selon un critère de distance (seuil utilisé). Ainsi que nous l'avons montré dans la partie 3.2, le déplacement apparent des centres optiques, quand il a lieu, ne dépasse pas 2,9 microns (3,6 pixels). Le seuil a une influence directe sur la carte finale. Plus le seuil sera élevé, plus il y aura de conflits d'appariement entre les cônes. Il est important que celui-ci soit inférieur à la distance histologique inter-cônes correspondant à une moyenne de 5,5 microns [Lombardo 2013] pour une zone entre 1 et 2 degrés d'excentricité. Lorsque les détections automatiques sont effectuées, la moyenne des distances inter-cônes est concordante avec ces données histologiques. Toutefois comme il s'agit d'une moyenne, la limite retenue pour le seuil est la distance inter-cônes minimale mesurée dans le résultat de détection automatique, ce qui correspond, en pratique, à 4 ou 5 pixels en fonction de l'excentricité de l'imagette.

De façon plus formelle, pour un cône noté P_j (appartenant à l'image 1), la première étape revient à chercher dans les images l'ensemble des appariements possibles $A(P_j)$ et ensuite à sélectionner C_i (appartenant à l'image 2), la position qui minimise le seuil ε (voir équations (3) et (4)). Lorsque pour un cône, il y a plusieurs candidats potentiels qui sont sélectionnés en fonction de ce seuil, c'est le plus proche qui est retenu (équation (4)). Le ou les candidats « rejetés » sont placés parmi les cônes « individuels » (qui n'apparaissent que dans une seule image), soit dans l'ensemble I (équation (6)). Notons B l'ensemble des appariements effectués à cette première étape (équation (5)). Il correspond à l'ensemble des points (P_j, C_i) de l'ensemble $A(P_j)$ qui minimise la distance $d(P_j, C_i)$. Dans l'ensemble I , on retrouve donc les cônes qui ne répondent pas à l'équation (5).

$$(3) \quad A(P_j) = \{C_i / d(P_j, C_i) \leq \varepsilon\}$$

$$(4) \quad C_i = \arg \min_{C_k \in A(P_j)} \{d(P_j, C_k)\}$$

$$(5) \quad B = \left\{ (P_j, C_i) / \left\{ C_i = \arg \min_{C_k \in A(P_j)} \{d(P_j, C_k)\} \right\} \right\}$$

$$(6) \quad I = \{C_i / \nexists P_j / (P_j, C_i) \in B\} \cup \{P_j / \nexists C_i / (P_j, C_i) \in B\}$$

Dans cette méthode, nous avons fait le choix arbitraire de considérer le cas où il y a plusieurs possibilités pour C_i , mais pas du cas où un C_i pourrait être apparié à des P_j différents pour des facilités d'implémentation. En revanche, nous avons réalisé quelques essais dans les deux sens et nous n'avons constaté que peu de différences (moins de 1%) dans la carte de fusion obtenue. Nous faisons donc l'hypothèse que le choix du point de référence pour la recherche d'appariement n'a qu'une influence négligeable sur la carte finale.

Ainsi la carte issue de la première étape correspond à une première configuration, et il peut rester des cônes dans l'ensemble I à une distance inférieure au seuil ε . Ce peut être le cas lorsqu'au cours de cette première étape, certains cônes ont présenté plusieurs candidats à l'appariement. Dans la pratique, pour un seul cône, il peut y voir jusqu'à deux candidats potentiels pour l'appariement. Le cas de plus de deux candidats n'a pas été rencontré. La *Figure 55* montre un exemple de configuration pour lequel cela se produit, et illustre un exemple de fusion pour deux images brutes déconvoluées avec la méthode de [Blanco 2011]. Ainsi dans l'ensemble I , il peut rester des cônes qui seront appariés à l'étape suivante. L'étape suivante consiste à appliquer le même procédé de recherche d'appariements possible dans l'ensemble I .

Dans la *Figure 55*, la première étape d'appariement correspond au processus qui aboutit à l'image (d). Parmi les couples de cônes à apparier, c'est la position du cône le plus réflectif (avec le niveau de gris le plus élevé) qui est retenue dans la carte intermédiaire (d). En effet, l'hypothèse a été faite que la position du cône correspondant à un niveau de réflectance le plus élevé est la position du cône la plus probable. Dans la carte (d), les points dans les zones encadrés par des carrés violets correspondent à des cônes appartenant à l'ensemble I .

En résumé, cette première étape de recherche d'appariements peut se décomposer en deux : d'abord la recherche d'appariements sur l'ensemble de l'image aboutissant à l'ensemble $B(P_j)$ et à la carte intermédiaire (d), ensuite à la recherche d'appariements sur l'ensemble I des cônes qui n'ont pas été appariés la première fois aboutissant à la carte (e) et à une mise à jour de l'ensemble des cônes appariés.

La deuxième étape consiste à fusionner dans la carte obtenue après la première étape (image (e) de la *Figure 55*), les couples de cônes de la carte dont la distance est inférieure au seuil ε . De la même manière qu'à la première étape, s'il reste des cônes à apparier, c'est celui correspondant à un niveau de gris le plus élevé qui est conservé, et l'autre candidat est supprimé. La carte finale correspond à une mosaïque de cônes où pour chaque cône, la distance avec son plus proche voisin est supérieure au seuil ε . Dans l'exemple de la *Figure 55*, la carte (e) correspond à la carte finale, car il ne reste pas, dans cet exemple, des cônes dont la distance est inférieure au seuil ε après la première étape. La plupart du temps, la première étape suffit à obtenir une carte finale qui respecte une distance inter-cônes supérieure au seuil ε .

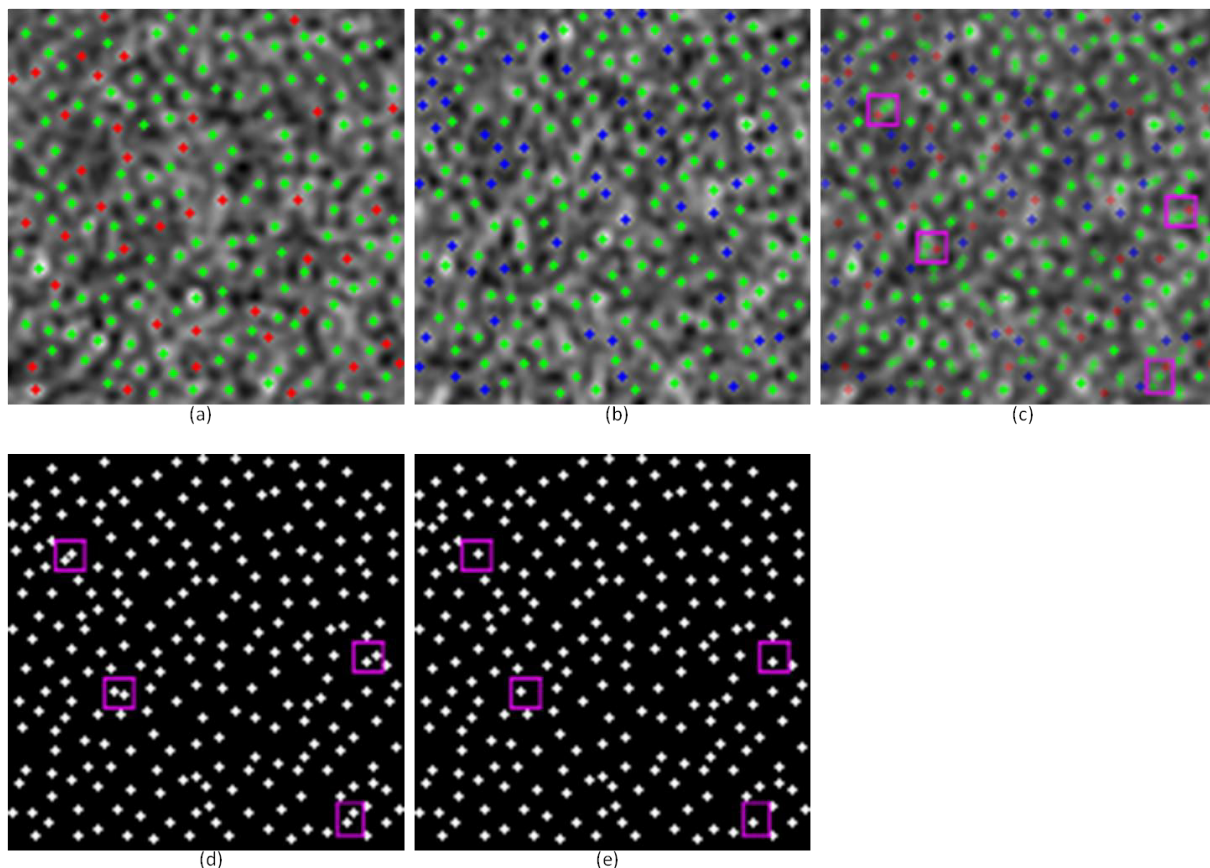


Figure 55 : Exemple de fusion de deux images. (a) et (b) sont les images à fusionner sur lesquelles les cônes appariés sont représentés en vert. Les croix bleues et rouges représentent les cônes non appariés. Dans l'image (c) tous les cônes des images (a) et (b) sont représentés. Les carrés violets permettent de distinguer des cas où un cône présente 2 candidats potentiels pour l'appariement. L'image (d) présente la carte finale après l'appariement et avant la mise à jour de la carte (étape 2). L'image (e) présente la carte finale pour la fusion des deux images (a) et (b).

2. Processus global et intégration des informations dans une carte

La méthode de fusion débute par la fusion d'une paire d'imagettes aboutissant à un premier résultat de cartographie temporaire, qui est à nouveau fusionné avec une autre imagette et ainsi de suite jusqu'à ce que toutes les imagettes de la pile soient fusionnées. L'ordre avec lequel les images de la pile sont ajoutées au processus de fusion n'a pas d'influence sur le résultat final car les fluctuations de la réflectance des cônes sont aléatoires et complètement hétérogènes d'un cône à l'autre au cours du temps. D'autre part, les résultats obtenus au cours de l'évaluation de la méthode (section 3.3.3) présentent toujours un profil asymptotique d'un sujet à l'autre, et d'une image à l'autre. Pour le vérifier nous avons effectué les fusions d'images sur des piles d'images brutes dans l'ordre croissant de la prise de vue, l'ordre décroissant et un ordre aléatoire, et nous avons obtenu les mêmes profils asymptotiques (Figure 59). La prise en compte de la variabilité temporelle sera ainsi faite avec la chaîne de traitement illustrée en Figure 56.

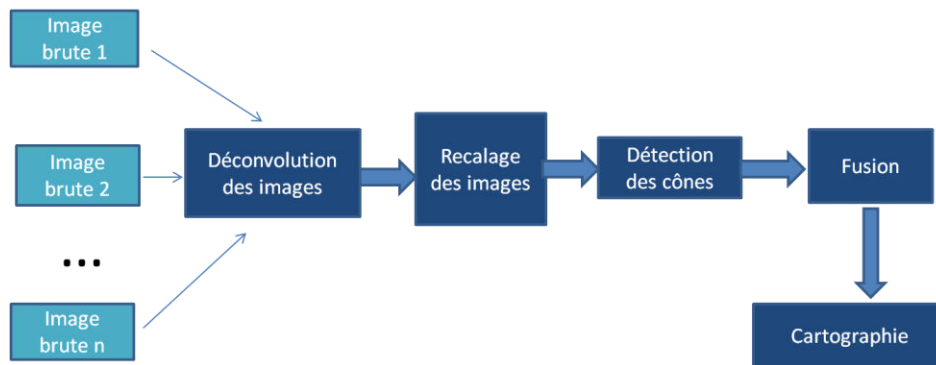


Figure 56 : Chaîne de traitement permettant d'aboutir à une cartographie intégrant la variabilité temporelle de la réflectance des cônes à 9,5 Hz. n images brutes sont déconvoluées avec la méthode de [Blanco 2011] avant d'être recalées avec le logiciel i2k [Yang 2007]. Ensuite elles sont analysées avec une détection automatique des cônes avec la méthode de [Loquin 2011] avant d'être enfin fusionnées pour obtenir une cartographie.

3.3.2 Procédure d'évaluation

Pour évaluer cette chaîne de traitement, une base de données de cinq sujets sains a été constituée. A chaque sujet correspond une image de la rétine 4 degrés x 4 degrés ($1200 \times 1200 \mu\text{m}^2$). De chacune de ces images, cinq imagerie de taille 96×96 microns sont extraites. Les imagerie sélectionnées ont une excentricité comprise entre 0,3 et 1 millimètre.

A chaque imagerie correspond une pile d'imagerie brutes (dont le nombre varie en fonction de la qualité des images obtenues) et une imagerie moyenne. Toutes les piles d'images brutes subissent le traitement préalable de déconvolution myope [Blanco 2011] décrit dans la section 2.1. Les piles sont de tailles variables d'un patient à l'autre car les images trop bruitées sont supprimées manuellement. En effet, certaines images brutes peuvent apparaître complètement floues à cause d'un mouvement de paupière du sujet au moment où elle a été prise. Toutes les piles d'imagerie brutes déconvoluées sont préalablement recalées avec le logiciel i2k [Yang 2007]. La détection automatique avec la méthode de [Loquin 2011] est ensuite appliquée sur toutes ces imagerie.

La procédure de fusion des images décrites dans la partie 3.3.1 est appliquée aux différents jeux d'images. Au cours de ce processus de fusion, et à chaque étape de la prise en compte d'une imagerie supplémentaire, le nombre de cônes ajoutés dans la carte est mesuré. Le nombre total de cônes dans la carte en fonction du nombre d'imagerie fusionnées est également mesuré.

Une approximation a été faite pour mesurer la densité théorique moyenne des imagerie en fonction de leurs excentricités par rapport à la fovéa en extrapolant les données histologiques [Curcio 1990] qui fournissent les valeurs sur les axes verticaux et horizontaux. Il est admis qu'il y a une répartition ovale de la densité des cônes par rapport à la fovéa [Curcio 1990]. Donc les densités sur les axes en diagonales peuvent être approximées par la moyenne des deux axes [Curcio 1990]. La valeur théorique de la densité de cônes en un point précis a donc été estimée en fonction de cette approche (voir exemple en Figure 57).

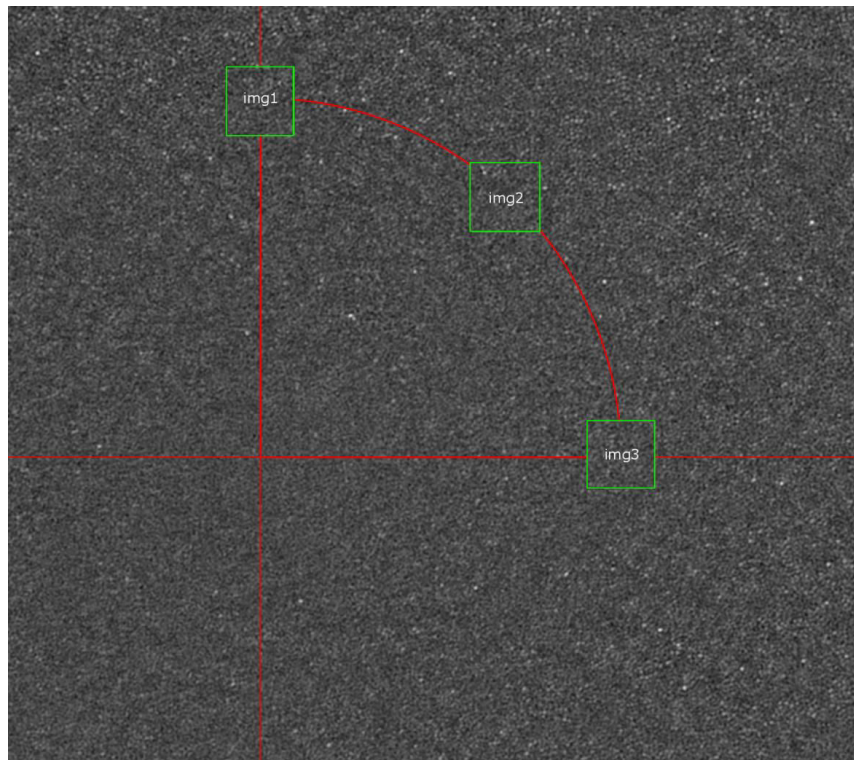


Figure 57 : Illustration de la mesure de densité sur les imagerie en fonction de l'excentricité. Approximation utilisée pour une image non localisée sur l'axe temporal/nasal ou supérieur/inferieur (img2) pour mesurer la densité théorique : la densité théorique de l'imagerie img2 est la moyenne des densités théoriques des imagerie img1 (axe supérieur) et img3 (axe temporal).

Le résultat attendu est que ces deux mesures (nombre de cônes ajouté et nombre total de cônes dans la carte) évoluent de façon asymptotique, jusqu'à atteindre un plateau proche de zéro pour la première et jusqu'à un plateau correspondant au nombre maximal de cônes pour la seconde. Dans la section 3.3.3, les résultats de ces mesures sont présentés graphiquement.

3.3.3 Analyse des résultats

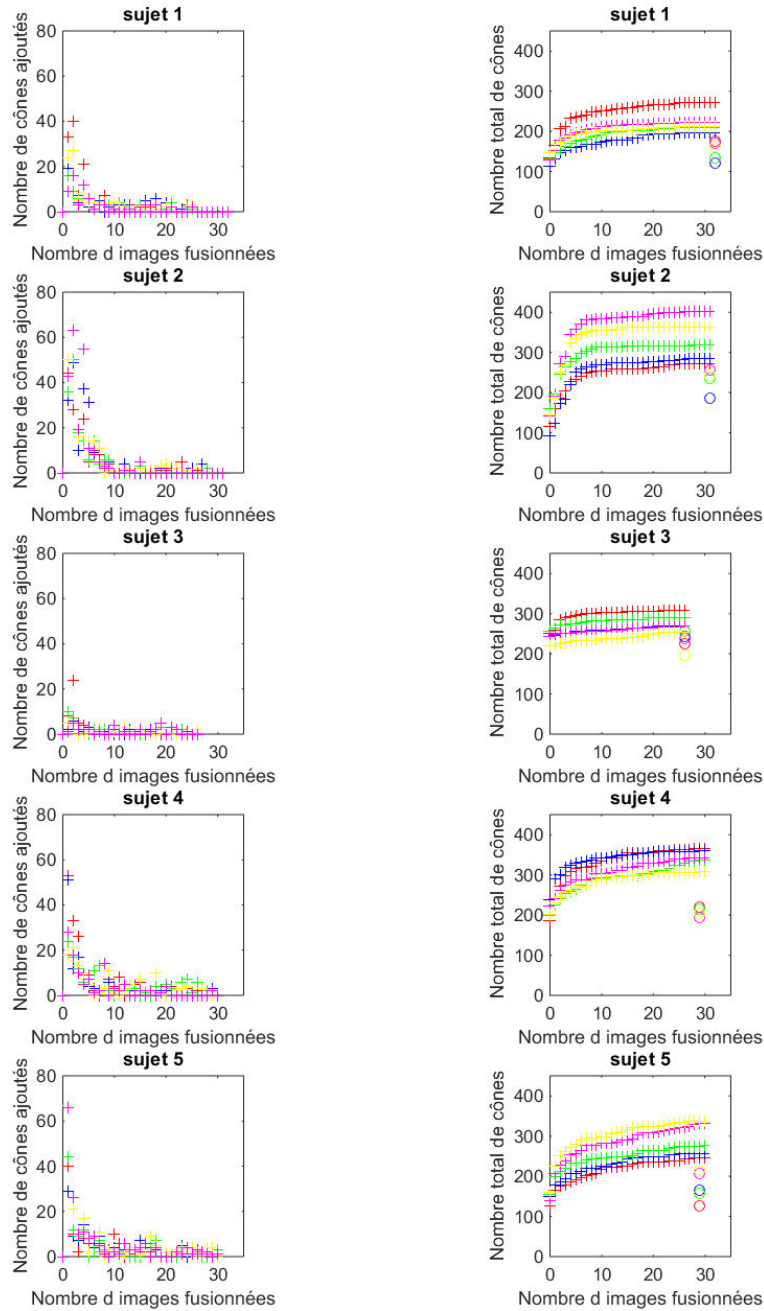


Figure 58 : Résultats de fusion d'images brutes déconvoluées sur 5 sujets sains. Les figures de gauche représentent pour chaque patient le nombre de cônes supplémentaires à chaque ajout d'une image brute. A droite est représenté pour chaque patient le nombre total de cônes dans la carte en fonction du nombre d'images fusionnées. Les cercles de couleur représentent le nombre de cônes détectés dans l'image moyennée correspondante. Chaque couleur correspond à un jeu d'images brutes pour le sujet concerné.

Les résultats de la *Figure 58* appellent certaines observations :

- Effet de saturation : pour l'ensemble des sujets, la saturation est atteinte entre la 10^{ème} (sujets 2, 3 et 5) et la 20^{ème} fusion (sujets 1 et 4). La fusion d'une vingtaine d'images brutes déconvoluées peut donc suffire à intégrer la variabilité temporelle et obtenir une carte plus complète. De plus cet effet de saturation est observé quel que soit l'ordre des images utilisé pour faire la fusion. Les résultats pour l'ajout des images par ordre croissant (de prise de vue), décroissant, et dans un ordre aléatoire sont illustrés en *Figure 59*.

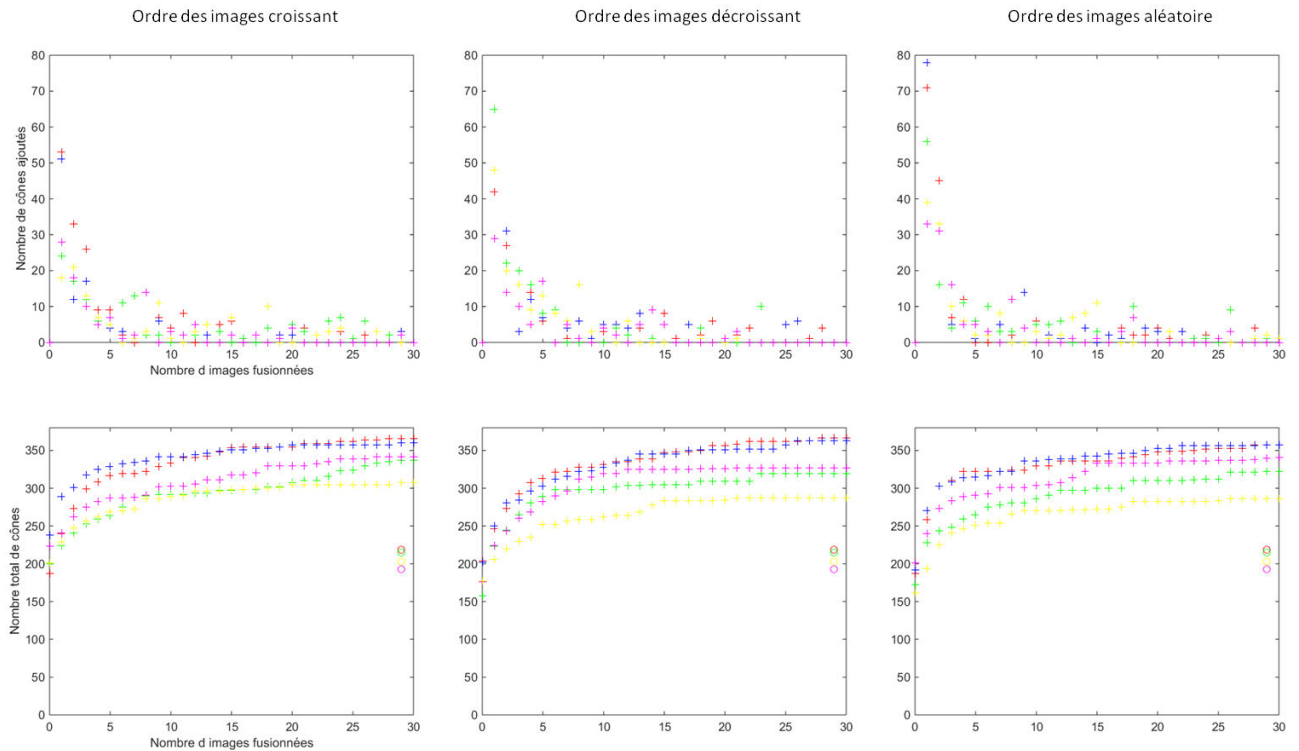


Figure 59 : Illustration des résultats de fusion d'images brutes en fonction de l'ordre avec lequel elles sont ajoutées à notre algorithme dans le cas du sujet 4.

Comme attendu, le même comportement asymptotique peut être observé quel que soit l'ordre de fusion des images. Toutefois, le nombre de cônes final observé présente une variabilité en fonction de l'ordre d'intégration des images, mais celle-ci est négligeable puisque la comparaison des moyennes observées a fourni des valeurs de p de 0,52 (comparaison des ordres croissant et aléatoire, test t de Student [Millot 2014]) et de 0,13 (comparaison des tests croissant et décroissant, test t de Welch [Millot 2014]), indiquant des différences peu significatives entre les différents groupes. Les résultats de fusion ont fourni deux valeurs de densité sur 25 plus éloignées dans le cas de l'ordre décroissant d'intégration des images, ce qui explique un écart plus important de la moyenne et de l'écart type dans ce cas par rapport à l'ordre aléatoire. Les moyennes observées sont données dans le *Tableau 13*.

Ordre des images	croissant	décroissant	aléatoire
Moyenne des densités de cônes (cônes/mm ²)	30265±5642	27921±5273	29241±5648

Tableau 13 : Moyennes des densités de cônes observées pour la fusion des images en fonction de l'ordre d'intégration des images de la pile dans le processus de fusion.

L'ordre d'intégration des images dans le processus de fusion n'influe pas de manière considérable sur l'ordre de grandeur de la densité de cônes obtenue, ainsi les cartes obtenues permettent dans tous les cas de se rapprocher des données histologiques.

- Bénéfice de la fusion en termes de détection des cônes: pour chaque sujet et chaque jeu d'images, la fusion des images permet d'obtenir un nombre total de cônes dans la carte toujours supérieur à celui qu'on obtient par la détection sur l'image moyennée correspondante (cercles de couleur, *Figure 60*). Dans le *Tableau 14*, est représenté le pourcentage d'amélioration du nombre total de cônes par fusion de 20 imagerie brutes déconvoluées par rapport au nombre de cônes détectés sur l'imagerie moyennée correspondante.

	Sujet 1	Sujet 2	Sujet 3	Sujet 4	Sujet 5
Gain	43 %	45%	19%	59%	61%

Tableau 14 : Gain en pourcentage de cônes supplémentaires obtenu avec la fusion de 20 imagerie brutes par rapport à la prise en compte de l'image moyenne seule chez cinq sujets.

Ainsi la fusion des images brutes permet d'améliorer le nombre de cônes détectés avec en moyenne plus de 45% de cônes supplémentaires par rapport aux images moyennées. Les détections semi-automatiques sur les images brutes déconvoluées ont été réalisées par un opérateur qui a ajusté le paramètre de tolérance de façon à avoir un résultat de détection valide. Il est donc admis que les résultats de détection sur chaque image brute sont valides et par conséquent que la fusion des résultats de détection de plusieurs images brutes de la même zone aboutit à une cartographie correcte. Cela est confirmé par le fait que la fusion de ces résultats de détection permet d'obtenir des cartes plus proches des données histologiques [Curcio 1990], comme le montre la *Figure 60*.

Dans la *Figure 60*, sont représentés de façon plus détaillée les résultats de fusion en termes de nombre de cônes et densités obtenues dans les cartes de fusion (courbes rouges) en comparaison avec les résultats de détection et de mesure de densité sur les imagerie moyennées (courbes bleues). Les densités théoriques des cônes ont été représentées sur la *Figure 60* (courbe verte), et estimées en fonction de l'excentricité de l'imagerie conformément aux données histologiques [Curcio 1990].

Les moyennes des densités obtenues sont de 30291 ± 5652 cônes/mm² pour les cartes de fusion et de 21437 ± 4475 cônes/mm² pour les imagerie moyennées. La valeur du p obtenu avec un test t (test de Welch [Millot 2014]) est de $1,844 \times 10^{-7}$. Les différences de densités entre les cartes de fusion et les imagerie moyennées correspondantes sont donc très significatives.

Les densités des cartes de fusion et les densités théoriques - avec une moyenne de 30530 ± 6638 - peuvent être considérées comme identiques puisque la valeur du p obtenu avec un test t (test de Welch, [Milot 2014]) d'une valeur de $8,916 \times 10^{-1}$ indique une différence peu significative. A l'inverse, les densités obtenues sur les images moyennées sont significativement éloignées des données histologiques avec une valeur de p de $1,143 \times 10^{-6}$.

Les principales limitations de ces résultats sont que les valeurs théoriques utilisées ont été calculées selon une procédure de moyenne (section 3.3.2) pour les imagerie qui ne sont pas dans les axes (verticaux et horizontaux), les positions de la fovéa pour le calcul de l'excentricité des imagerie est placée manuellement de façon arbitraire, et enfin les données histologiques ne proviennent pas des mêmes sujets (il peut y avoir une variation de densité d'un sujet à l'autre pour une même excentricité).

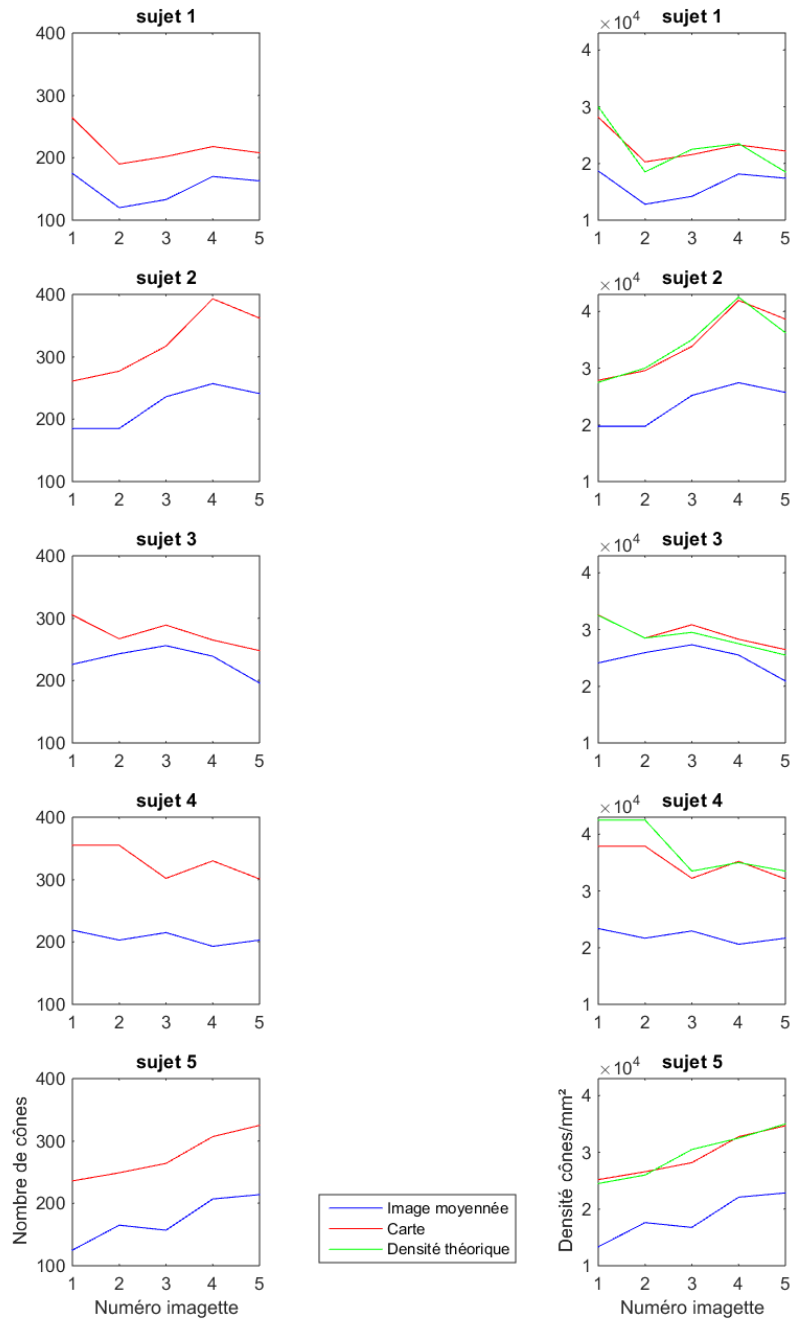


Figure 60 : Résultats de fusion d'images brutes déconvoluées sur 5 sujets sains. Les figures de gauche représentent pour chaque sujet le nombre de cônes de la carte de fusion (courbes rouges) et de l'image moyennée (courbes bleues). A droite sont représentées, pour chaque sujet, les densités de cônes dans la carte de fusion (courbes rouges) et dans l'image moyennée (courbes bleues). Les densités théoriques conformément aux données histologiques [Curcio 1990] sont représentées par les courbes vertes.

Compte tenu des résultats de la *Figure 60*, la fusion des images permet d'obtenir des cartes avec des valeurs de densité de cônes en accord avec les données histologiques tandis que la prise en compte d'une seule image moyennée fournit des valeurs de densité éloignées des valeurs théoriques. Cela corrobore l'hypothèse de la forte atténuation des cônes les moins réfléchissants lorsqu'un moyennage des images brutes est effectué par la machine au cours du processus d'acquisition, réduisant ainsi le nombre de cônes présents détectés.

3.4 Conclusion

Dans cette partie, nous avons montré que les cônes de la rétine présentent une variabilité temporelle importante, que l'on a appelée scintillement. Ce phénomène n'a pas pu être quantifié compte tenu des limitations liées à l'acquisition : fréquence limitée à 9,5 Hz. Les origines et la quantification de ce phénomène demeurent inconnues à ce jour. Même si plusieurs possibilités quant à son origine ont été évoquées, celles-ci n'ont pas pu être vérifiées.

Nous avons proposé une méthode permettant de prendre en compte ce phénomène pour améliorer la cartographie des cônes. Pour cela, un travail de prétraitement des images brutes était nécessaire. Un test d'évaluation de deux techniques de déconvolution, une méthode non aveugle dite « gaussienne » [Wendykier] et une méthode aveugle [Blanco 2011], a été réalisé et a permis de sélectionner la méthode aveugle.

La méthode de fusion des images brutes déconvoluées avec la méthode aveugle a permis d'augmenter de façon significative le nombre de cônes dans la cartographie et de se rapprocher d'avantage des données histologiques [Curcio 1990]. L'ordre avec lequel les images sont intégrées dans le processus de fusion présente une influence négligeable sur le nombre de cônes final dans la carte. Quel que soit l'ordre utilisé pour réaliser la fusion des cartes, les densités obtenues restent significativement proches des données histologiques.

Les principales limitations de ces résultats sont la procédure de moyennage qui a permis de calculer une densité théorique pour chaque imagerie : la position de la fovéa est déterminée manuellement pour calculer l'excentricité de chaque imagerie et une densité théorique est calculée en fonction de cette excentricité. Les données histologiques sont utilisées comme références malgré le fait que les données de densité peuvent évoluer d'un sujet à l'autre. Les données histologiques correspondent à des moyennes réalisées sur un grand nombre de sujets, nous considérons donc que les valeurs de densité de nos sujets doivent s'en approcher.

Nous n'avons pas réalisé de tests de fusion d'images brutes chez des sujets pathologiques. Les images brutes de lésions demeurent difficiles à exploiter dans la mesure où très peu de photorécepteurs sont visibles. Cependant, l'utilisation d'une acquisition multi-angles permet de pallier ce problème dans les cas pathologiques.

Par ailleurs, il convient de compléter la prise en compte des variations temporelles de la réflectance des cônes avec l'intégration de l'effet Stiles-Crawford ou de leur variabilité spatiale pour améliorer, à un deuxième niveau, la cartographie des cônes. C'est l'objet du chapitre 4.

4. Etude de la variabilité angulaire de la réflectance des cônes et intégration dans le processus de fusion

Une fois les variations temporelles compensées, les cartographies effectuées sous différents angles peuvent être intégrées pour avoir un processus complet de fusion permettant de tenir compte des deux variabilités : spatiale et temporelle. Dans la section 4.1, nous décrivons la procédure d'acquisition mise en place pour observer la variabilité des cônes avec différents angles d'incidence; puis la section 4.2 porte sur la mise en évidence clinique de l'effet Stiles-Crawford différentiel entre les cônes et les bâtonnets. Enfin, dans la section 4.3, nous présentons la procédure ainsi que les résultats obtenus de fusion multi-angles proposée pour améliorer la cartographie des cônes en particulier chez les sujets pathologiques.

4.1 Protocole d'acquisition et estimation de l'angle d'incidence

4.1.1 Procédure d'acquisition des images en OA

La procédure d'acquisition initialement mise en place consiste à prendre cinq images d'une même zone suivant un angle d'incidence à chaque fois différent (respectivement à 3h, 12h, 9h, 6h, et « en face »). Dans la *Figure 61*, chaque disque noir représente la pupille, les quatre points blancs au centre appelés « images de purkinjés » modélisent le centre de la pupille et la position de l'axe optique (barycentre des quatre points). Le faisceau incident est modélisé par le cercle vert qui contient une croix verte en son centre. Il indique l'angle du faisceau incident par sa position par rapport aux points de purkinjés (et donc par rapport au centre de la pupille). On peut également l'appeler pupille d'entrée.

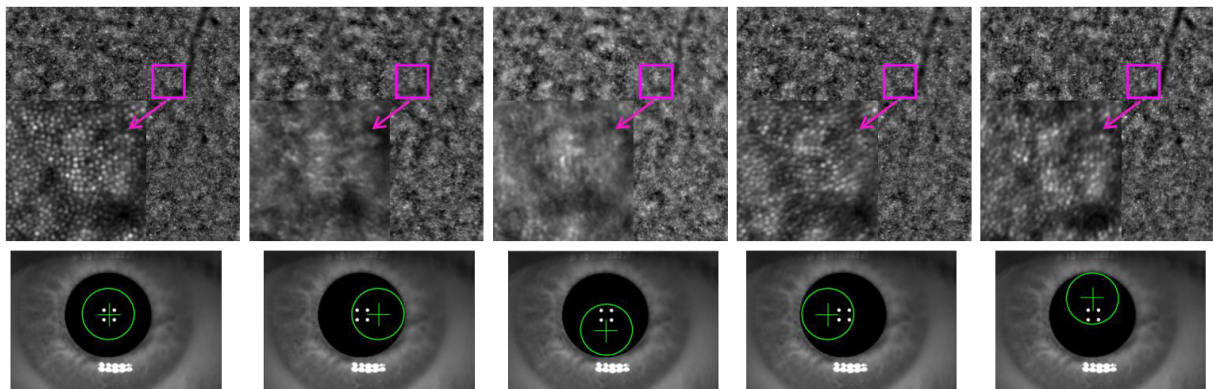


Figure 61 : Procédure d'acquisition de cinq images d'une même zone avec différentes pupilles d'entrée. De gauche à droite les positions des pupilles d'entrée correspondant aux angles « en face », « 3h », « 6h », « 9h », et « 12h ».

L'image « en face » présente souvent un meilleur contraste que les images prises à d'autres angles. Toutefois, cette image n'est pas suffisante pour capter tous les cônes de la zone, certains n'étant en effet visibles qu'avec une autre pupille d'entrée (ou angle d'entrée du faisceau incident). Les positions de ces cinq pupilles permettent de maximiser le nombre de cônes visibles pour les excentricités faibles, car elles permettent de recouvrir l'ensemble de la zone de réflexion des cônes. En effet nous supposons que la gaussienne de réflectance des cônes para-fovéolaires est plus diffuse (écart type plus grand) que celle des cônes très éloignés de la fovéa.

4.1.2 Mesure de l'angulation utilisée au moment de l'acquisition

En établissant un modèle d'acquisition (*Figure 62*), il est possible d'estimer une amplitude d'angles d'observation des cônes nous permettant ainsi d'avoir la meilleure reproductibilité possible entre les opérateurs.

- Mesure de l'amplitude de visibilité des cônes avec le RTX1

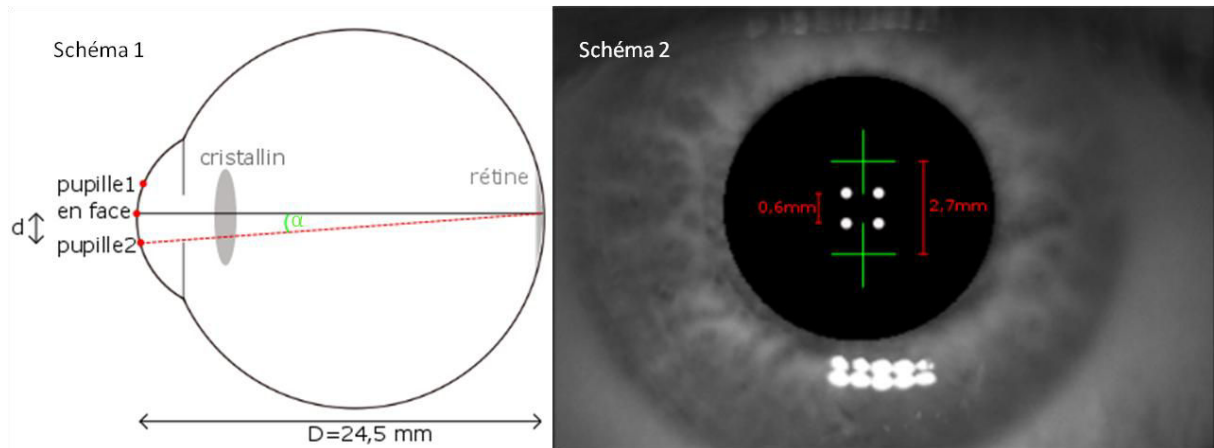


Figure 62 : Illustration du modèle d'acquisition permettant de faire une estimation de l'angle d'incidence de la lumière.

Sur le schéma 1 de la *Figure 62*, le globe oculaire est représenté avec trois exemples de position du rayon incident au moment de l'acquisition avec le RTX1 : à 12h (pupille 1), 6h (pupille 2) et « en face ».

Pour mesurer l'amplitude angulaire utilisée avec le RTX1, les approximations suivantes ont été faites :

- La profondeur de l'œil D utilisée est de 24,5 mm.
- L'indice de réfraction n du cristallin se situe entre 1,386 et 1,406.
- La distance à prendre en compte dans le calcul de l'angle d'incidence correspond à la profondeur de l'œil multiplié par l'indice de réfraction n du milieu de l'œil.
- Dans l'obscurité, le diamètre de la pupille observée peut atteindre 8 mm.

Les limitations suivantes doivent être considérées :

- Le diamètre de la pupille varie d'un individu à l'autre.
- Les mouvements de la pupille du patient sont un facteur d'imprécision de la mesure de l'angle.
- Lors de l'acquisition, la position de l'axe optique de l'œil observé est indiquée par la position du reflet cornéen correspondant aux quatre points de purkinjés. Ces derniers sont directement positionnés par le système d'OA au moment de l'acquisition.

L'estimation de l'angle d'incidence de la lumière pendant l'acquisition est donnée par la formule :

$$(7) \quad a = \arctan(d / (Dn))$$

Un protocole d'acquisition a été mis en place afin d'avoir une meilleure reproductibilité des images et des paramètres d'acquisition associés. Dans la *Figure 63*, on représente les positions des pupilles d'entrée pour les cinq incidences désirées, utilisées dans le cadre de ce protocole d'acquisition.

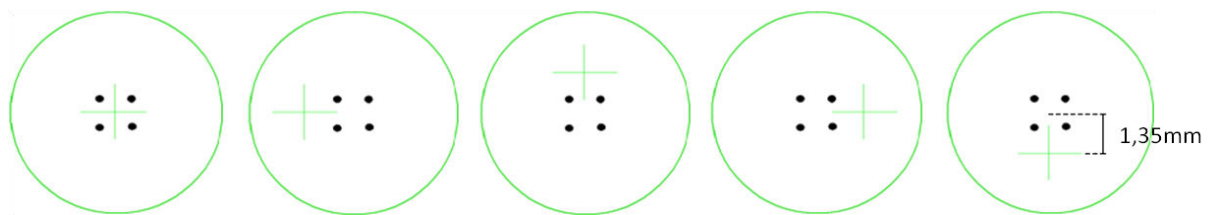


Figure 63 : Illustration des différentes positions du faisceau incident utilisées pour le protocole d'acquisition.

Grâce à ces positionnements, une estimation de l'angle d'incidence du faisceau lumineux a pu être déterminée. Sachant que le point d'entrée du faisceau est ainsi systématiquement décalé d'une distance de 1,35 mm par rapport au centre de la pupille, selon notre procédure, le décalage correspond à un angle de 2,3 degrés par rapport au centre modélisé par les points de purkinjés.

La procédure standardisée revient donc à acquérir une image coaxiale (dite « en face »), et quatre images décalées de 2,3 degrés (*Figure 63*).

- Vérification de l'angle en utilisant la parallaxe des vaisseaux

Il est possible de retrouver cette mesure d'angle en utilisant la parallaxe des vaisseaux sanguins observée en OA. En effet, lorsque plusieurs images OA sont prises avec ces différents angles d'incidence, après recalage des images avec le logiciel i2k [Yang 2007], un mouvement relatif des ombres des vaisseaux (appelée ici parallaxe) par rapport à la mosaïque des cônes peut être observé et utilisé pour obtenir une approximation de l'amplitude de l'angle parcouru, ce qui nous a permis de vérifier la cohérence de la mesure précédente.

Pour trois sujets différents, nous avons fait l'acquisition de trois images en OA dont une « en face » et deux images décalées selon la procédure. Le résultat attendu est un angle proche de 4,6 degrés entre les deux images correspondant aux pupilles d'entrée décalées.

La *Figure 64* montre un exemple d'acquisition permettant de voir cette parallaxe des ombres des vaisseaux sanguins.

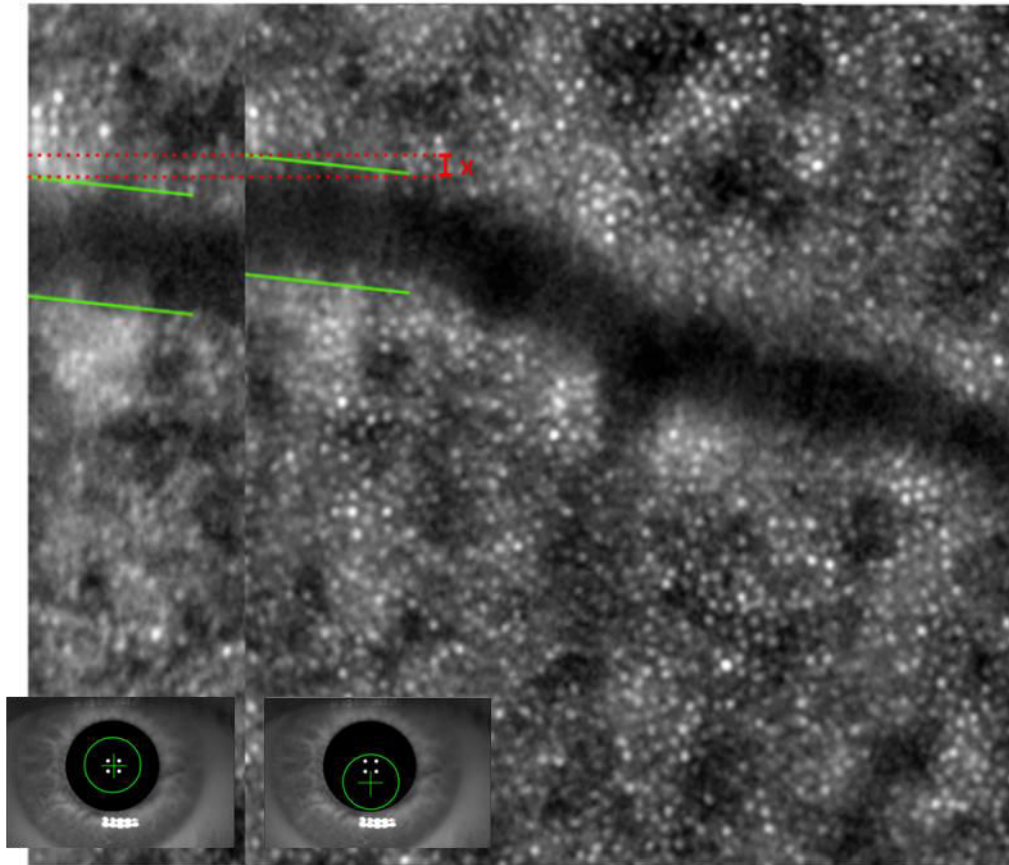


Figure 64 : Illustration de la mesure de la parallaxe des ombres des vaisseaux en OA lorsque plusieurs acquisitions à différents angles d'incidences sont effectuées. En bas de chaque image est représentée la pupille d'entrée correspondante. Le décalage x de l'ombre du vaisseau entre les deux images est représenté en rouge. Les segments verts sont positionnés manuellement pour délimiter les bords du vaisseau et faciliter la comparaison entre les deux images.

La distance x relative entre les ombres des vaisseaux entre deux images permet d'obtenir une estimation d'angle par triangulation comme le montre la Figure 64. Nous faisons l'approximation que le plan contenant les vaisseaux est parallèle à celui de la rétine, et que par conséquent, le mouvement relatif des ombres des vaisseaux observé en OA par rapport au plan des cônes est aussi parallèle à ce plan. Nous proposons une modélisation géométrique simple en Figure 65 pour effectuer cette mesure d'angle à partir de la parallaxe des ombres des vaisseaux observée en OA.

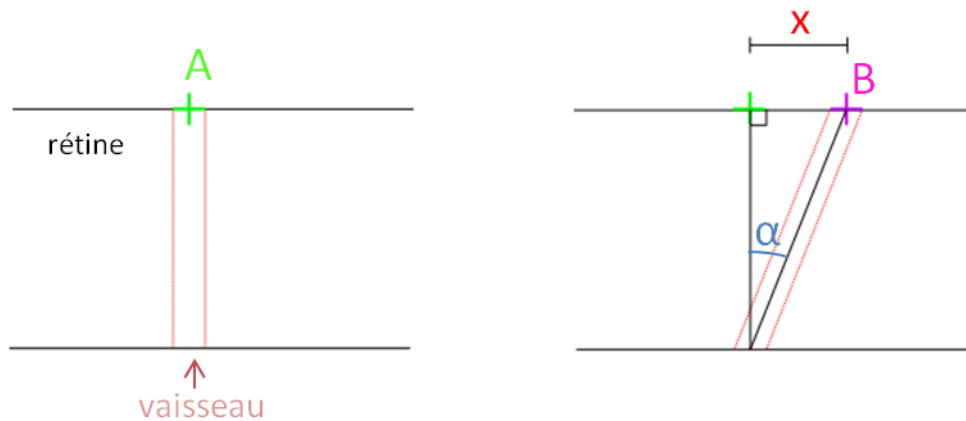


Figure 65 : Illustration de la mesure de l'amplitude angulaire des cônes. x est le décalage du vaisseau mesuré dans la Figure 64.

Pour cette modélisation, nous considérons que la couche des vaisseaux sanguins se situe au-dessus de la couche des photorécepteurs (tissu rétinien). La distance x correspond à la translation relative des vaisseaux sanguins liée à la parallaxe. Par exemple lorsqu'on fait une acquisition de deux images aux angles « 3h » et « 9h », la translation relative des ombres des vaisseaux entre les deux images correspond à x sur notre figure. L'épaisseur e de la rétine est mesurée à l'aide de l'image OCT correspondante à la zone imagée en OA. Par simple trigonométrie, on en déduit l'angle α .

$$(8) \quad \alpha = 2 \arctan(x/ne)$$

avec n l'indice de réfraction du tissu rétinien et e l'épaisseur de la rétine au niveau de la zone étudiée.

Les distances x ont été mesurées pour chaque sujet et sont données dans le *Tableau 15*:

	e (microns)	x (pixels)	x (microns)	α (degrés)
sujet1	227	29	23,2	4,4
sujet2	224	30	24	4,6
sujet3	256	33	26,4	4,4

Tableau 15 : Quelques résultats de mesures de la parallaxe des vaisseaux chez trois sujets sains.

Chez ces trois sujets, une moyenne de 4,5 degrés est obtenue pour α , ce qui est très proche de la valeur mesurée précédemment (4,6 degrés).

Ces mesures ont été faites sur seulement trois sujets, mais montrent qu'il est possible de vérifier avec des méthodes d'analyse d'images l'ordre de grandeur de l'angle utilisé au moment de l'acquisition des images des cônes avec le RTX1.

4.2 Mise en évidence clinique d'une manifestation de l'effet Stiles-Crawford à travers les mosaïques négatives

Cette partie correspond à un article accepté pour publication au journal IOVS [Miloudi 2015]. Dans cette article, nous proposons de décrire et d'explorer une manifestation non connue à ce jour de l'effet Stiles-Crawford optique (OSCE) [Westheimer 2008] dans les yeux normaux. Parmi une cohorte de vingt cinq sujets normaux, la réflectance directionnelle des cônes dans la périphérie de la rétine a été explorée par OA en illumination plein champ (FIAO) et par tomographie par cohérence optique (OCT). Dans cette partie, nous mettons l'accent sur une preuve de concept, et non sur les méthodes d'analyses d'images (comme par exemple pour la détection des cônes) qui ont déjà été présentées dans la section 2.

A partir de la découverte chez les sujets normaux que la mosaïque des cônes pouvait être hypo-réflexive, nous avons émis l'hypothèse que cet aspect était dû à la différence entre l'effet Stiles-Crawford des cônes et celui des bâtonnets. En effet, la réflectance des bâtonnets étant relativement uniforme quelle que soit l'angulation du faisceau incident, la baisse de réflectance des cônes inverse le contraste entre les deux types de photorécepteurs. Nous avons également analysé la correspondance entre l'imagerie en face par optique adaptative et l'imagerie OCT, montrant que la variation angulaire détectée par imagerie en face était plus fortement corrélée aux variations de la réflectance de certaines couches vue par OCT. Nous démontrons donc l'importance clinique de la prise en compte de l'angle d'incidence de la lumière pour analyser correctement les images à haute résolution de la rétine. De plus, cette approche combinée pourrait permettre de mieux identifier les cônes des bâtonnets dans les rétines pathologiques, et aussi de mieux comprendre l'origine de la réflectance des cônes. Dans cette partie nous appelons mosaïque positive, une mosaïque de cônes qui apparaissent hyper-réflexifs (plus ou moins lumineux), et mosaïque négative, une mosaïque de cônes qui apparaissent hypo-réflexifs (sous forme de taches noires).

The Negative Cone Mosaic: A New Manifestation of the Optical Stiles-Crawford Effect in Normal Eyes

Chahira Miloudi,^{1,2} Florence Rossant,³ Isabelle Bloch,⁴ Céline Chaumette,¹ Alexandre Leseigneur,¹ José-Alain Sahel,¹ Serge Meimon,⁵ Sarah Mrejen,¹ and Michel Paques¹

¹Quinze-Vingts Hospital, Département Hospitalo-Universitaire SightMaintain, Institut National de la Recherche Médicale (INSERM)-Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins, 1423, Paris, France

²Alten Corporation, Boulogne Billancourt, France

³Institut Supérieur d'Électronique de Paris, Paris, France

⁴Institut Mines Telecom, Telecom ParisTech, Centre National de la Recherche Scientifique Laboratoire Traitement et Communication de l'Information, Paris, France

⁵Office National d'Études et de Recherches Aéronautiques, Châtillon, France

Correspondence: Michel Paques, Quinze-Vingts Hospital, 28 rue de Charenton, Paris F-75012, France; mp@cicoph.org.

Submitted: April 4, 2015

Accepted: September 28, 2015

Citation: Miloudi C, Rossant F, Bloch I, et al. The negative cone mosaic: a new manifestation of the optical Stiles-Crawford effect in normal eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56:XXX-XXX. DOI:10.1167/iovs.15-17022

PURPOSE. The purpose of this study was to describe a previously unreported manifestation of the optical Stiles-Crawford effect (oSCE) in normal eyes.

METHODS. In a cohort of 50 normal subjects, the directional reflectance of cones in the retinal periphery was explored by flood-illuminated adaptive optics (FIAO) and optical coherence tomography (OCT).

RESULTS. In 32 eyes (64%), off-axis FIAO images of the retinal periphery (~15–20° from the fovea) showed variably sized patches of hyporeflective dots (called here negative mosaic) coexisting with hyperreflective (positive) cones. In nine cases, shifting the entry pupil toward the optical axis restored the positive cone mosaic, with a point-by-point correspondence between positive and negative mosaics. Rods remained hyperreflective around negative and positive cones. These changes were paralleled by changes of the OCT reflectance of the cone outer segment tips and, to a lesser extent, of the inner/outer segment limit.

CONCLUSIONS. By en face FIAO imaging of the retina, the contrast of cones over rods may be strongly dependent on the entry pupil to such an extent that their reflectance is lower than that of rods. We hypothesized that the negative cone mosaic aspect results from the differential Stiles-Crawford effect of cones and rods. Cone reflectance by en face FIAO parallels the reflectance from the cone outer segment tip line and to a lesser extent of the inner/outer segment limit by OCT. Taking this into account, the oSCE is of importance for the interpretation of high-resolution images of photoreceptors. (ClinicalTrials.gov number, NCT01546181.)

Keywords: photoreceptors, adaptive optics, optical coherence tomography, optical Stiles-Crawford effect

One photoreceptors have a strong directional selectivity, a property called the Stiles-Crawford effect (SCE). The discovery of a reduced foveal sensitivity when illuminating the fovea off-axis^{1,2} revealed the functional importance of the SCE. It was later observed that the reflectance of cones also shows angle-dependent variability, either by reflectometry,^{3,4} scanning laser ophthalmoscopy with⁵ or without^{6,7} adaptive optics, wavefront sensing,⁸ or optical coherence tomography (OCT).⁹ This gave rise to the concept of optical SCE (oSCE).¹⁰ However, the clinical relevance of oSCE remains poorly known.

While examining the peripheral retina of healthy eyes, we incidentally observed patches of what could be described as negative mosaic, that is, a strong attenuation of the cone reflectance relative to the background giving rise to a contrast inversion. To our knowledge, this has not been previously reported. Here, we explored this feature to verify the hypothesis that it represents a physiologic manifestation of the oSCE.

MATERIALS AND METHODS

Fifty healthy subjects were recruited among controls within an ancillary study of an ongoing study on photoreceptor imaging (registered in ClinicalTrials.gov NCT01546181) for which they gave informed consent. This institutional clinical study was carried out according to the principles outlined in the Declaration of Helsinki. Approval of the ethics committee of the Saint-Antoine hospital (Paris, France) was obtained. The cohort was composed of 28 women and 21 men, with ages ranging from 25 to 66 years and with no ocular medical history. Their mean refraction error was −1.75 diopters (D) (range, −4 to +0.5 D).

Flood-illumination adaptive optics (FIAO) imaging was done with a commercially available FIAO camera (rtx1; Imagine Eyes, Orsay, France). The adaptive optics loop features a 750-nm superluminescent diode beam to measure the point spread function by a Shack-Hartmann wavefront sensor (40 × 32 array). Correction is performed via a deformable mirror (mirao

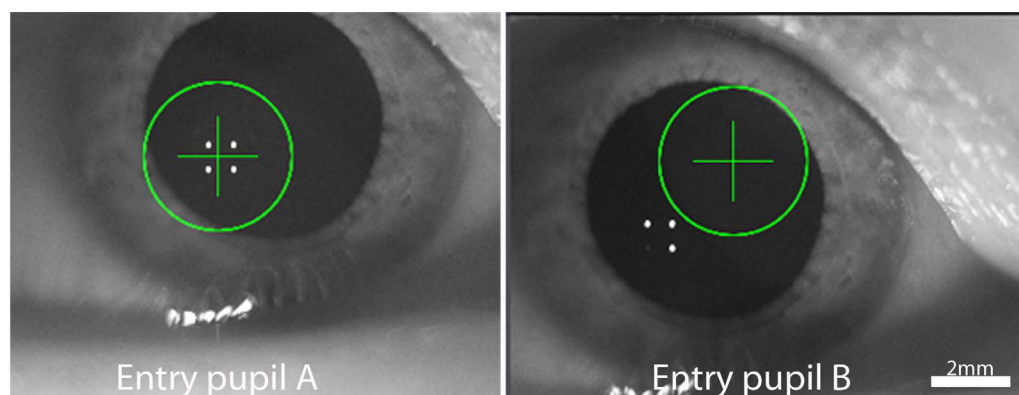


FIGURE 1. Screen capture of the anterior segment image of the viewer interface of the FIAO camera showing the placement of the entry beam (green cross) in a right eye gazing superonasally. The four white dots are the first Purkinje images indicating the tip of the cornea relative to the frontal plane. In all cases, the negative mosaic was observed close to position A (i.e., close to the inferotemporal rim of the pupil), while the positive mosaic was observed closer to position B (i.e., close to the superonasal rim).

52e; Imagine Eyes). The imaging path is composed of a 850-nm flood illumination beam from a light emitting diode (LED) with a size of 2.5 mm at the pupil illuminating a uniform $4^\circ \times 4^\circ$ field on the retina, whose reflection is captured by a 656×494 -pixel charge-coupled device.

The fundus imaging procedure is briefly summarized here. En face FIAO fundus images were obtained through fully dilated pupils (1% tropicamide; Novartis, Rueil Malmaison, France) in light-adapted, unbleached eyes. During examination, two live screen images are displayed: one showing the adaptive optics corrected fundus image and the other showing the corneal reflection (first Purkinje image) of four LED sources together with the center of the entry beam (Fig. 1). As the internal fixation target can only explore the posterior pole 10° from the fovea, an external target guiding the fellow eye was required to navigate in the retinal periphery. However, due to the asymmetric configuration of the system, only in the right eye could the periphery be examined. When a negative mosaic

was identified on the live fundus display, an image was acquired coaxially to the corneal reflex (i.e., in the case of a right eye gazing superonasally, close to point A; Fig. 1). Then, the entry pupil was manually shifted as far as possible toward the corneal apex (i.e., close to point B, which is closer to the optical axis), and another image of the same region was acquired. The shift of the entry beam was measured on screen captures of the anterior segment. Although patches of negative mosaics could be identified at similar eccentricities in all directions (data not shown), the data presented thereafter were obtained in the superonasal retina.

Each stack of 40 raw images acquired by the AO camera was processed using the software provided by the manufacturer (CK v0.1; Imagine Eyes).¹¹ Raw images were registered and averaged to produce a final image with improved signal-to-noise ratio; the background of the resulting image was subtracted using a Gaussian filter, and the histogram was stretched over a 16-bit range of gray levels. The positions of

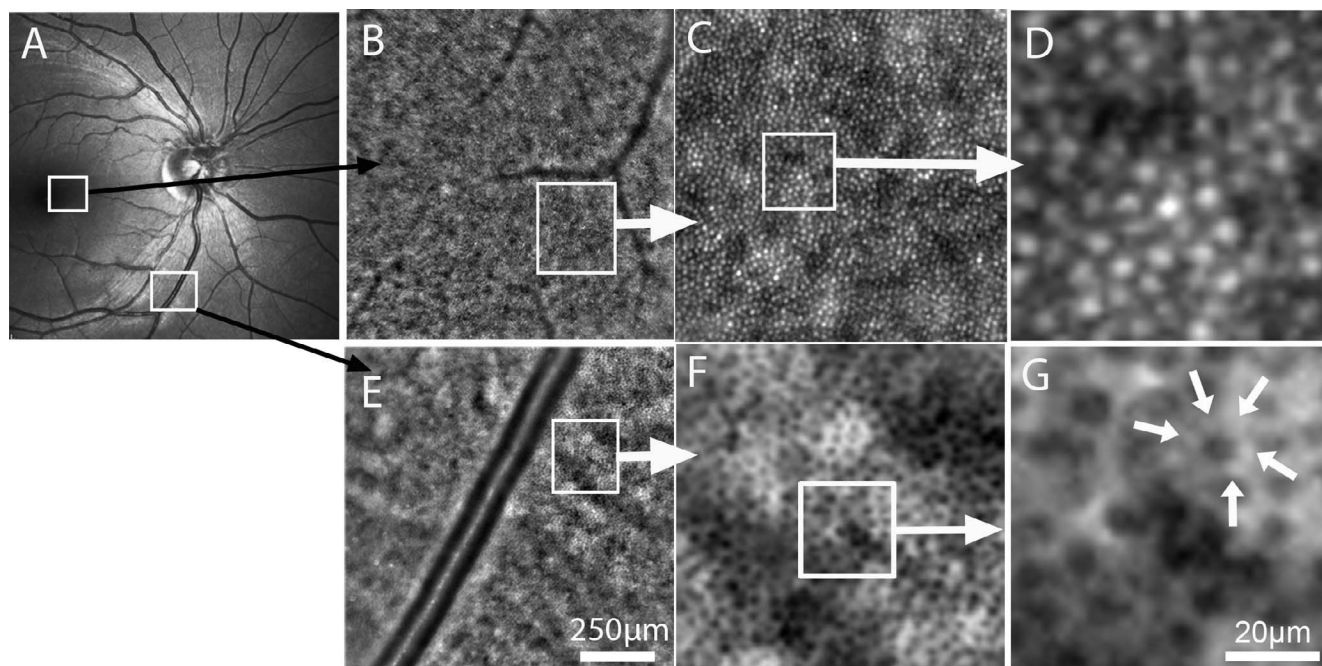


FIGURE 2. Representative AO images of a positive (B–D) and negative (E–G) cone mosaic in the retina of a normal eye. Note the regular mosaic of small dots, presumably rods, around negative cones (small arrows in G).

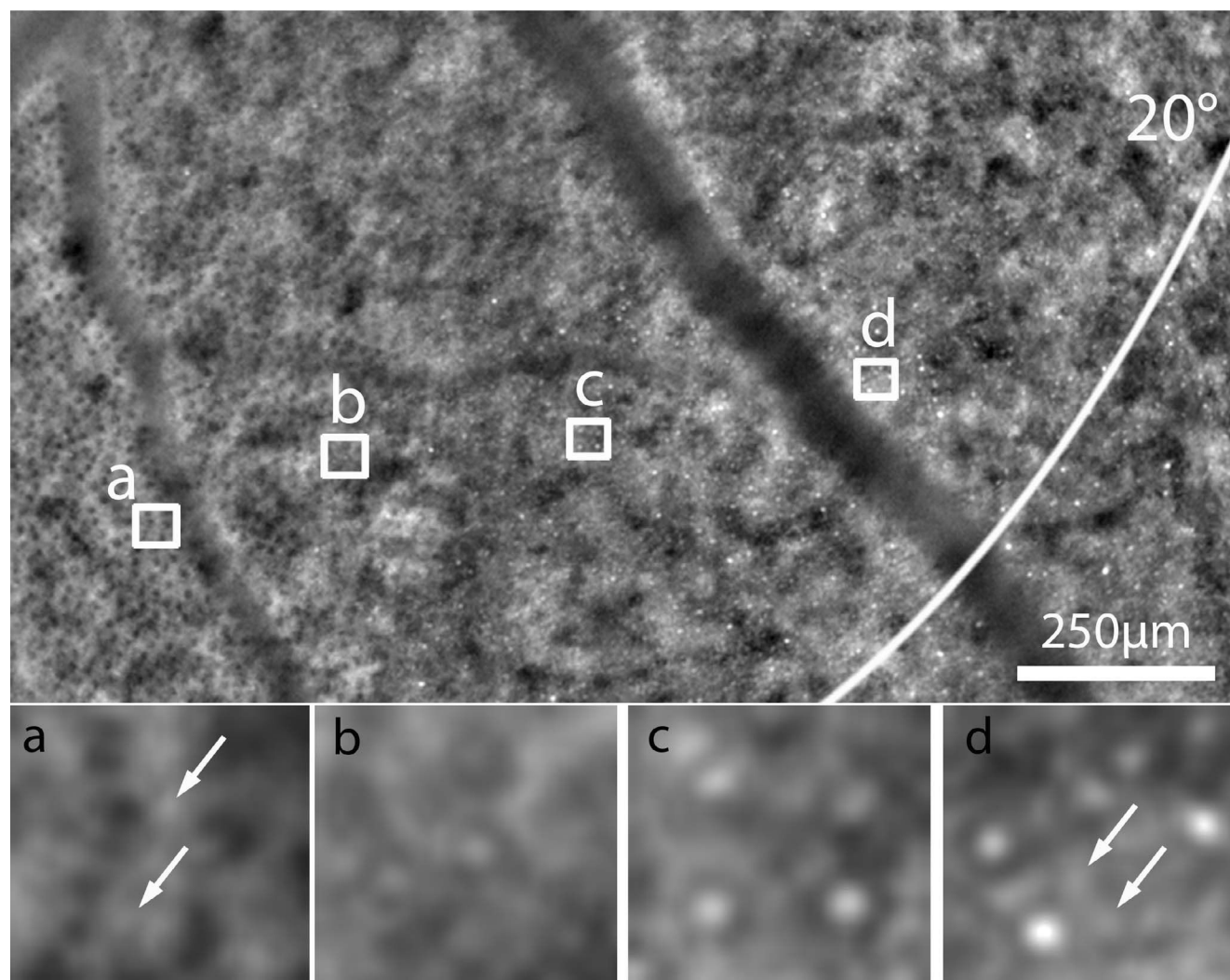


FIGURE 3. Coexistence of negative and positive mosaics within a single FIAO image. The curved line delimits 20° foveal eccentricity. (*Bottom*) Magnifications highlighting the change in cone phenotype from the negative (**a**) to the positive (**d**) mosaic. Note the visibility of rods (*small arrows*) around both negative and positive cones.

photoreceptors in positive mosaics were computed using the software provided by the manufacturer (AOdetect v0.1, Imagine Eyes). For cone counting in negative mosaics, the image was transformed into its negative. Images taken at different entry pupils were registered by rotation and size adjustment using Adobe Photoshop 7.0 (Adobe Corporation, Mountain View, CA, USA).

The OCT was done using a Spectralis scanning laser ophthalmoscope-OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). In regions in which negative cones were found, OCT scans through two entry pupil were acquired. As opposed to the FIAO camera, the OCT system does not allow visualizing the entry pupil. Therefore, two entry pupils, one as close as possible to point A and the other one as close as possible to point B, were empirically positioned by taking into account the presumed position of the pupil. In order to limit averaging artifacts, the number of scans to be averaged was fixed at two. The built-in registration procedure ensured automatic registration of OCT scans taken at different entry pupils. Registration was considered acceptable if there were no obvious changes in choroidal patterns between the images. Intensity plots of gray scales of OCT scans were generated using ImageJ (version 1.49; developed by Wayne Rasband; available at <http://rsb.info.nih.gov/ij>).

Lateral pixels were averaged over 100 μm to minimize the effect of scatter. Plots were rescaled assuming a zero value for the vitreous and normalized to the retinal pigment epithelium (RPE), which was reported to be invariant with light incidence.⁹

RESULTS

In 32 eyes (64%), FIAO imaging at $\sim 15^\circ$ to 20° eccentricity showed patches of mosaic of hyporeflective dots (called the negative mosaic; Fig. 2). The mean diameter $\pm$ SD of these hyporeflective dots was $6.27 \pm 1.1 \mu\text{m}$, and their mean density $\pm$ SD was $4458 \pm 1112/\text{mm}^2$. In most cases, within a single image, negative cones coexisted with positive cones (Fig. 3); the area covered by negative cones in a single image varied from 42% to 83% (mean, 61%). Smaller hyperreflective dots, presumably rods, with an apparent diameter in the range of 3 μm , displayed in two to three rows between cones, were seen packed around the hyporeflective dots; their faint contrast with the background did not allow precise measure of their size or density.

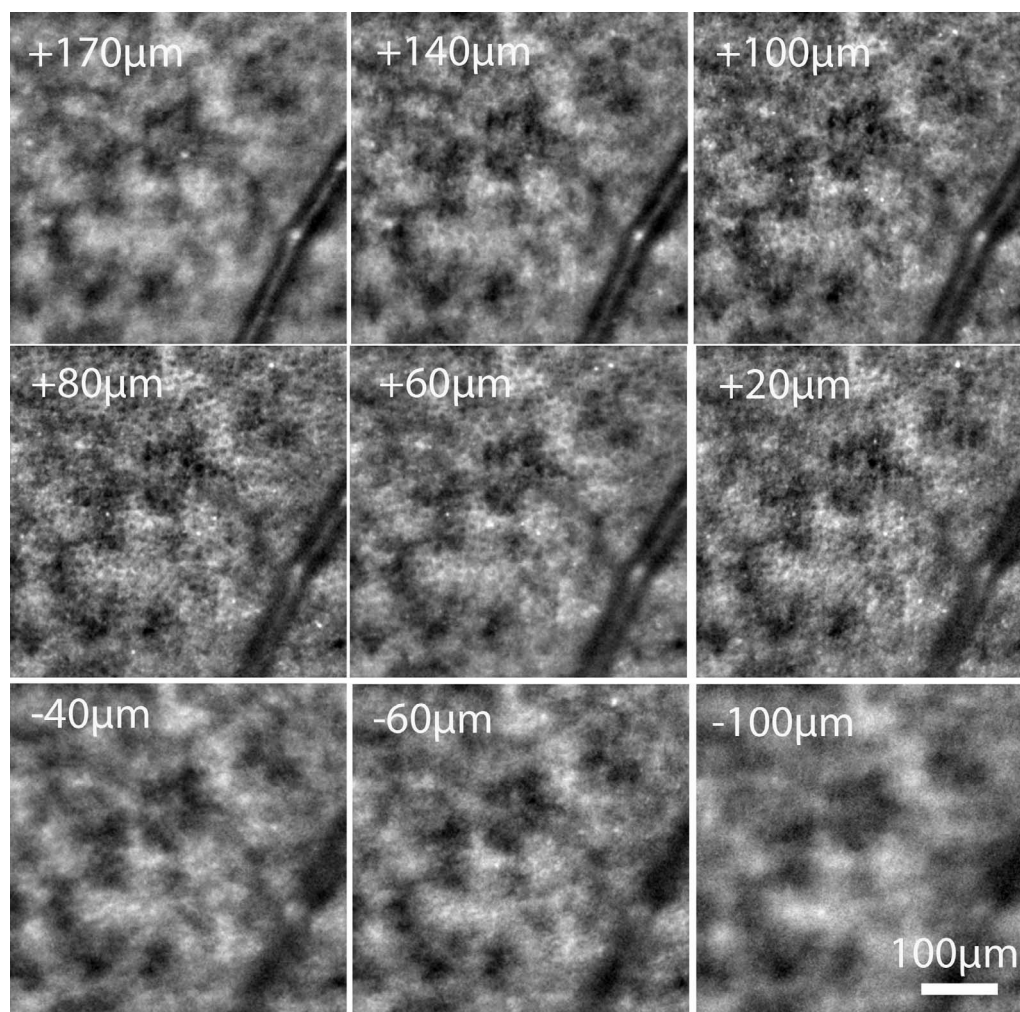


FIGURE 4. Negative cone mosaic observed at different level of focus (indicated in each image), showing that defocusing does not result in a switch to positive mosaic (defocusing of a positive mosaic is shown in Supplementary Fig. S1).

In order to rule out defocus as the cause of the negative mosaic pattern, FIAO images were acquired at different levels of focus in five eyes. Defocus did not lead to a switch positive to negative cones or vice versa (Fig. 4; Supplementary Fig. S1). Negative mosaics were also detected in raw images (Supplementary Fig. S2), ruling out an artifact from image processing.

Shifting the entry pupil from the corneal reflex (point A) to the corneal apex (point B; i.e., closer to the optical axis) attenuated the contrast of the negative mosaic in all eyes. In nine of these eyes (Figs. 5, 6), this even restored the positive cone mosaic. Registration of negative and positive mosaics confirmed that negative and positive mosaics mirrored (Fig. 5). The lateral shift of the entry beam required to observe such a switch from a negative to a positive mosaic ranged from 2.54 to 6.65 mm. The mean density $\pm$ SD of positive cones in areas showing a switch from negative to positive cones ranged from $502 \pm 318/\text{mm}^2$ in negative mosaics to $4514 \pm 3498/\text{mm}^2$ in positive mosaics. Figure 6 illustrates the variations of cone counts in an area showing a switch from positive to negative cones.

The identification of regions showing a strong directional modulation of the reflectance of cones offered the opportunity to correlate FIAO and OCT imaging by exploring the corresponding changes in the reflectance of the outermost bands by OCT (Figs. 7, 8). In all cases, directional changes in cone reflectance paralleled the directional changes in reflec-

tance of the cone outer segment tip (COST) line and to a lesser extent of the inner/outer segment (IS/OS) limit.

DISCUSSION

Here we report a previously unrecognized manifestation of the oSCE in normal eyes, that is, contrast inversion of the cone mosaic. Registration of negative and positive mosaics suggested indeed that the negative mosaic was a mirror view of the positive cone mosaic. This was not reported in previous studies of high resolution imaging of peripheral retina.^{7,12,13}

In all eyes, a mosaic of reflective structures $\sim 3 \mu\text{m}$ in diameter was consistently present around negative and positive cones. We assumed that this corresponded to the reflection from rods. The transverse resolution of our camera ($2.4 \mu\text{m}$) indeed theoretically enables to detect peripheral rods, which are larger than rods in the posterior pole.^{14,15} The rod/cone distribution found here was similar to that shown by in vivo high-resolution imaging and histology reports.¹³ We therefore hypothesize that the reflectance of rods indeed contributed significantly to the reflectance around cones. Switching the entry pupil did not result in obvious changes in the rod reflectance, which is in accordance with the notion that rods have a reduced oSCE compared with cones.^{2,10}

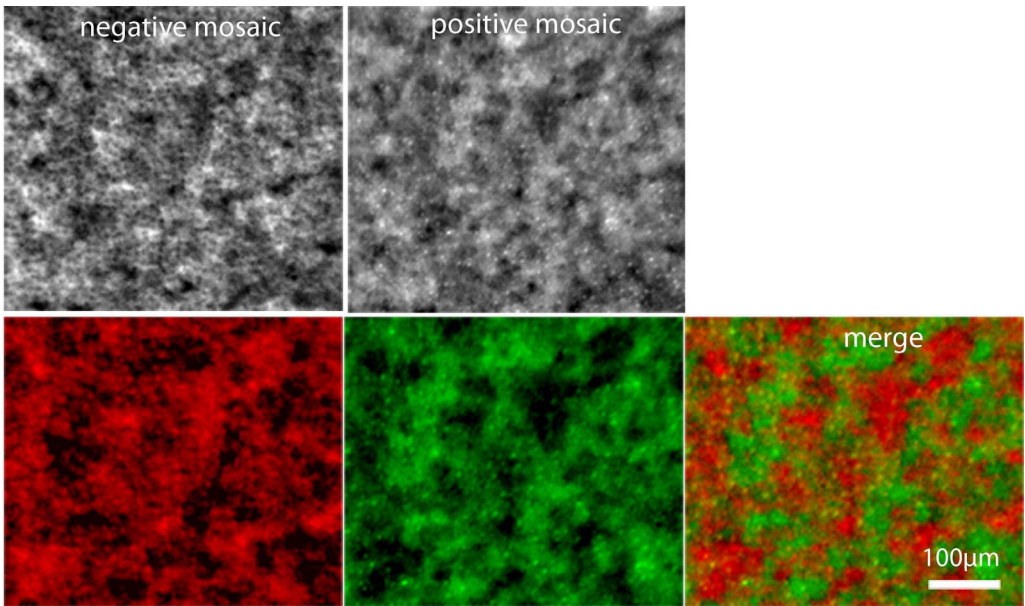


FIGURE 5. Registration of negative and positive mosaics. Negative and negative mosaics (*top row*) of the same retinal area have been color coded (*bottom row*). The negative of the original image of the negative mosaic was color coded in *red* in such a way that hyporeflective cones appear in *bright red*; therefore, in the merged image, cones that have switched from negative to positive are in *yellow*.

Therefore, the negative pattern probably results from the differential oSCE between rods and cones.

A negative cone mosaic was not observed in all eyes, raising the issue about the specificity of eyes with negative mosaics. However, it is of interest to note that as we gained expertise in the use of the camera, we increased the rate of eyes in which a negative mosaic could be found. Crucial points appear to be the obtention of a fully dilated pupil, which maximizes the angulation of incident light with the cones and the careful

observation of the fundus on the live image screen. As a result, the last 20 patients that we examined all showed patches of negative mosaic. Hence, we believe that negative mosaics can be observed by this camera in virtually all normal eyes, and hence that it is relatively independent of the biometrics characteristics of the eye.

Negative mosaics were not observed in the macula, but only around 15° to 20° from the fovea. This seemingly contradicts the fact that directional variations of the outer band reflectance

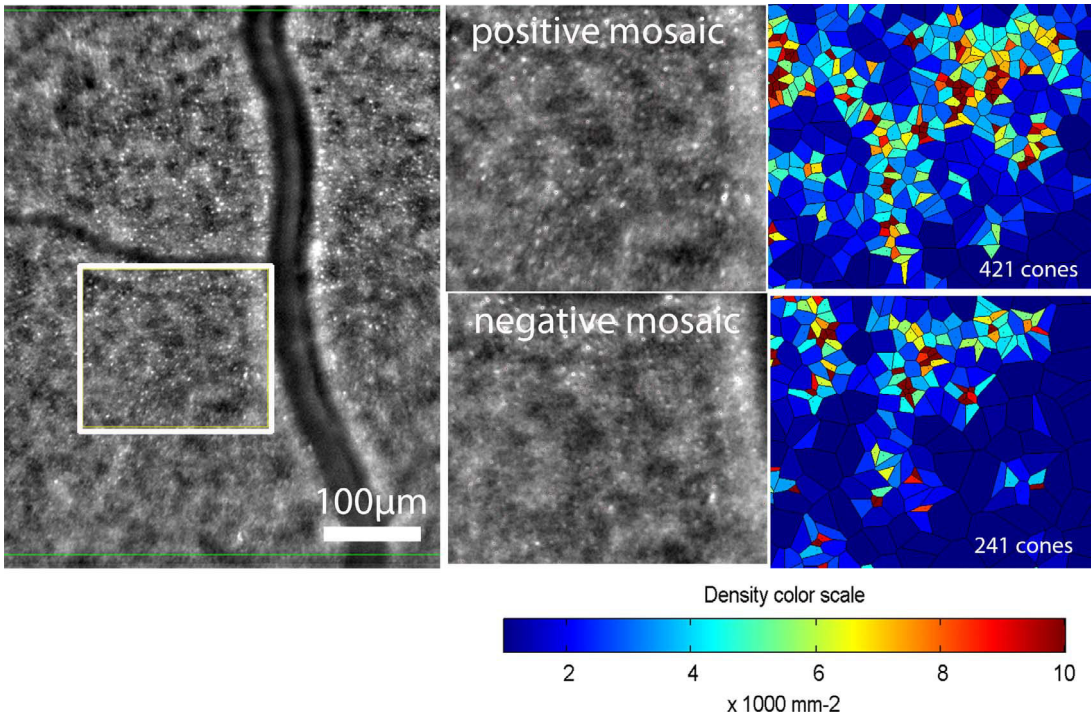


FIGURE 6. Effect of shifting the entry pupil on automated cone counts. In a given retinal region, automated cone counts were done in positive and negative mosaics. The number of detected cones is smaller in the negative cone mosaic.

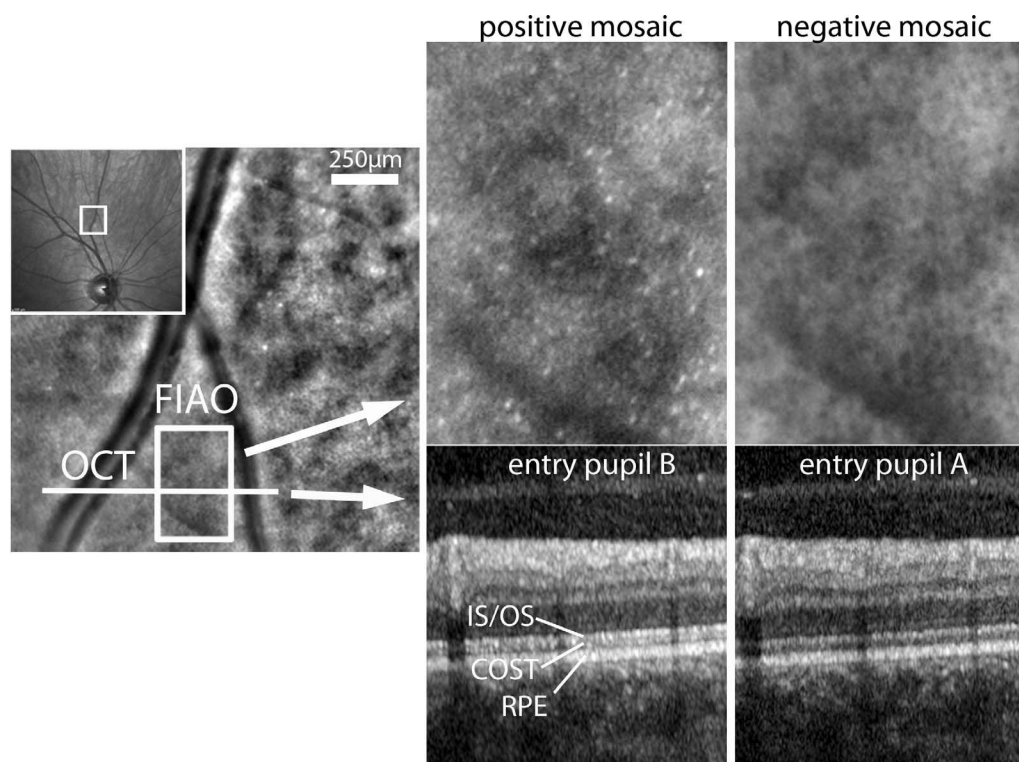


FIGURE 7. Directional reflectance of photoreceptors on OCT scans. OCT scans of a retinal region showing negative mosaic were captured through different entry pupils. Note the decreased reflectance of the COST line and of the IS/OS limit in the negative pattern.

by OCT have been already reported in the macula.⁹ Although we did not observe negative mosaics in the macula, we cannot exclude that there was indeed directional variability of photoreceptor reflectance on FIAO images of the macula since

we did not measure the absolute reflectance of cones but rather subjectively appreciated the contrast of cones over the background. Assuming that the directional reflectance of individual cones shows a Gaussian profile, it is possible that

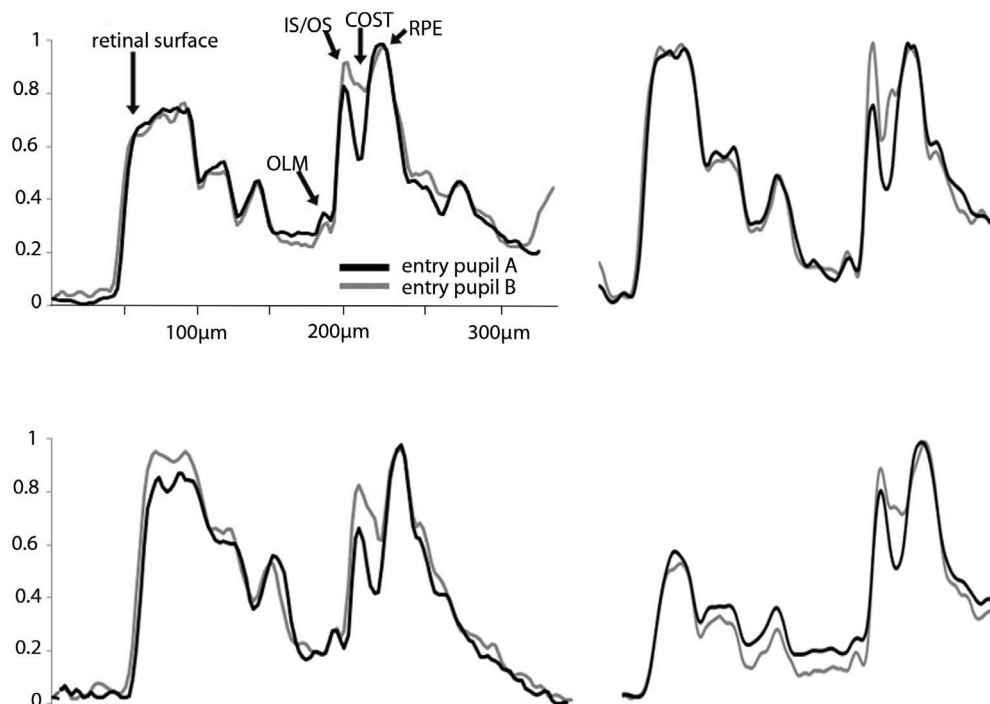


FIGURE 8. Superimposition of intensity plots of gray levels of OCT scans corresponding to positive (gray lines) and negative (black lines) cone mosaics. Pairs of plots were rescaled assuming a zero value for the vitreous and normalized to the RPE. Note that in all cases the relative decrease of the reflectance of the COST line is more important than that of the IS/OS junction. OLM, outer limiting membrane.

the steeper angle of peripheral cones relative to the plane of the RPE¹⁶ maximized the angulation of cones relative to the incident light, which was then closer to the trough of the Gaussian curve. Alternative explanations would be that peripheral cones show a stronger oSCE and/or that they are misaligned. It has been suggested that the SCE is correlated with the diameter of cones, that is, larger cones show a stronger SCE.¹⁷ Histology studies suggest that cones and rods increase in size from the center to the periphery.¹⁸ Accordingly, the oSCE of foveal cones, which are smaller, is less important than that of parafoveal cones.^{4,14} Thus, the negative cone mosaic found in the peripheral retina may be due to a stronger oSCE of larger cones. However, a scanning laser ophthalmoscope (SLO) imaging study found that the oSCE did not significantly vary from 5° to 20° from the fovea.⁷ Misalignment of peripheral cones is another possible explanation. An interesting finding was that there was coexistence of negative and positive mosaics in the same 4° image. Psychophysical measures of the SCE in retinal periphery reported a slight, nonsystematic divergence of the alignment of peripheral versus foveal cones,¹⁹ yet the significance of this difference as regard the precision of the measure is unknown.

Combining directional reflectance by OCT and FIAO is potentially of interest to improve our understanding of the oSCE. On OCT scans of normal eyes, at least four parallel hyperreflective bands can be identified at the photoreceptor-RPE interface. Although the anatomical correspondences of these bands are still debated,^{20–22} it is generally considered that the second band is at the IS/OS limit. A similar controversy affects the third band, which is attributed to the COST by most authors, although others favor a slightly different hypothesis stating that it corresponds to the interdigitation between the RPE extensions and the cone outer segments.²² We found that, relative to the RPE, the COST showed more directional variations than the IS/OS. This is rather consistent with histology, since the COST line is cone specific, whereas rods and cones both contribute to the IS/OS line. Our findings are in accordance with a previous study,⁹ which has also shown that the outer retinal band showing the most important directional variation is the COST line.

Our study has significant technical limitations. We could not measure the absolute reflectance of cones since the built-in processing of FIAO images includes averaging, Gaussian filtering, and histogram stretching, which unavoidably alters photoreceptor reflectance. Moreover, we limited ourselves to two points in the pupil, which in the case of OCT could not be known with precision. These factors limited the analysis of the correlation between light incidence and reflectance. Also, as our FIAO system is not confocal, focusing may have varied between eyes. An *in silico* modeling suggested that contrast inversion of cones may result from the specific optical properties of outer segments.²³ Images very similar to negative cones have been obtained *in vitro* by focusing between the COST and the RPE,²⁴ probably because of the shorter length of the outer segment of cones. However, in our patients, defocusing did not result in a transition from positive to negative mosaic or vice versa. The large depth of focus of our system relative to the length of the COST may have overcome the distance between the outer segment tips of cone and rods.

Although in the present study we only examined normal eyes, it is likely that these findings may help to refine our interpretations of images from diseased retinas. Indeed, automated cone counts or segmentation algorithms of OCT scans may vary in their result according to the angle of incident light, which is usually not recorded at the time of examination. This effect is probably dependent on the size of the entry pupil. Studies comparing FIAO and OCT in diseased retinas led to the conclusion that the reflectance of the COST line is

strongly correlated to the visibility of cones in FIAO images.^{25,26} However, even in the presence of convergent findings from en face and OCT imaging, it cannot be concluded for a given subject that cones outer segments are absent in an area showing absence of the COST and of a cone mosaic. Our findings indeed suggest that the decreased intensity of the reflectance of the COST line seen in a particular incidence may be due to misaligned cones. Hence, integrating images from several entry pupils may contribute to disambiguate missing from off-axis cones. Another interesting consequence of our findings is that the presence of directional reflectance may actually be helpful to identify cones within a remodeled retina. Accordingly, it has been shown that extracting the asymmetric component of photoreceptor reflectance (split-detection²⁷) is a powerful means for the identification of cones in a dystrophic retina. The Henle fibers,^{28–30} the nerve fiber layer,³¹ and Gunn's dots³² also show strong directional reflectance; hence, multiangle imaging appears as a necessary procedure for adequate interpretation of high-resolution retinal imaging.

Acknowledgments

Supported by the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Contrat d'Interface 2011) (MP), the Agence Nationale de la Recherche (ANR-09-TECS-009 and ANR-12-TECS-0015-03) (MP, CC, AL, J-AS, S Mrejen), the Foundation Fighting Blindness (C-GE-0912-0601-INSERM02) (MP, J-AS, S Mrejen), and the French Ministry of Research (CIFRE131145A10) (CM). The funding organizations had no role in the design or conduct of this research. MP and S Mrejen hold a patent (FR1153306) on multiangle OCT, and MP is a consultant for the manufacturer of the adaptive optics camera used in this study.

Disclosure: **C. Miloudi**, None; **F. Rossant**, None; **I. Bloch**, None; **C. Chaumette**, None; **A. Leseigneur**, None; **J.-A. Sahel**, None; **S. Meimon**, None; **S. Mrejen**, P; **M. Paques**, Imagine Eyes (C), P

References

1. Stiles WS, Crawford BS. The luminous efficiency of rays entering the eye pupil at different points. *Proc R Soc Lond*. 1933;112:428–450.
2. Flamant F, Stiles WS. The directional and spectral sensitivities of retinal rods to adapting fields of different wavelengths. *J Physiol*. 1948;107:187–202.
3. Gorrand JM, Delori FC. A reflectometric technique for assessing photoreceptor alignment. *Vision Res*. 1995;35:999–1010.
4. Burns SA, Wu S, Delori FC, Eisner AE. Direct measurement of human cone photoreceptor alignment. *J Opt Soc Am A*. 1995;12:2329–2338.
5. Roorda A, Williams DR. Optical fiber properties of individual human cones. *J Vis*. 2002;2:404–412.
6. Delint PJ, Berendschot TM, van Norren D. Local photoreceptor alignment measured with a scanning laser ophthalmoscope. *Vision Res*. 1997;37:243–248.
7. Ratava D, Vohnsen B. Analysis of individual cone-photoreceptor directionality using scanning laser ophthalmoscopy. *Biomed Opt Express*. 2011;2:1423–1431.
8. Gao W, Jonnal RS, Cense B, Kocaoglu OP, Wang Q, Miller DT. Measuring directionality of the retinal reflection with a Shack-Hartmann wavefront sensor. *Opt Express*. 2009;17:23085–23097.
9. Gao W, Cense B, Zhang Y, Jonnal RS, Miller DT. Measuring retinal contributions to the optical Stiles-Crawford effect with optical coherence tomography. *Opt Express*. 2008;16:6486–6501.
10. Westheimer G. Directional sensitivity of the retina: 75 years of Stiles-Crawford effect. *Proc Biol Sci*. 2008;275:2777–2786.

11. Gocho K, Sarda V, Falah S, et al. Adaptive optics imaging of geographic atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54:3673-3680.
12. Merino D, Duncan JL, Tiruveedhula P, Roorda A. Observation of cone and rod photoreceptors in normal subjects and patients using a new generation adaptive optics scanning laser ophthalmoscope. *Biomed Optics Express*. 2011;2:2189-2201.
13. Dubra A, Sulai Y, Norris JL, et al. Noninvasive imaging of the human rod photoreceptor mosaic using a confocal adaptive optics scanning ophthalmoscope. *Biomed Optics Express*. 2011;2:1864-1876.
14. Curcio CA, Sloan KR, Kalina RE, Hendrickson AE. Human photoreceptor topography. *J Comp Neurol*. 1990;292:497-523.
15. Jonas JB, Schneider U, Naumann GO. Count and density of human retinal photoreceptors. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1992;30:505-510.
16. Laties AM, Leibman P, Campbell C. Photoreceptor orientation in the primate eye. *Nature*. 1968;218:172-173.
17. Vohnsen B, Iglesias I, Artal P. Guided light and diffraction model of human-eye photoreceptors. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis*. 2005;22:2318-2328.
18. Westheimer G. Dependence of the magnitude of the Stiles-Crawford effect on retinal location. *J Physiol*. 1967;192:309-315.
19. Bedell HE. Central and peripheral retinal photoreceptor orientation in amblyopic eyes as assessed by the psychophysical Stiles-Crawford function. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1980;19:49-59.
20. Spaide RF, Curcio A. Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography: literature review and model. *Retina*. 2011;31:1609-1619.
21. Jonnal RS, Kocaoglu OP, Zawadzki RJ, Lee SH, Werner JS, Miller DT. The cellular origins of the outer retinal bands in optical coherence tomography images. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:7904-7918.
22. Staurengi G, Sadda S, Chakravarthy U, Spaide RF. International Nomenclature for Optical Coherence Tomography (IN•OCT) Panel. Proposed lexicon for anatomic landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography: the IN•OCT consensus. *Ophthalmology*. 2014;121:1572-1578.
23. Vohnsen B. Directional sensitivity of the retina: A layered scattering model of outer-segment photoreceptor pigments. *Biomedical Optics Express*. 2014;5:1569-1587.
24. Packer OS, Williams DR, Bensinger DG. Photopigment transmittance imaging of the primate photoreceptor mosaic. *J Neurosci*. 1996;16:2251-2260.
25. Jacob J, Paques M, Krivosic V, et al. Meaning of visualizing retinal cone mosaic in adaptive optics images. *Am J Ophthalmol*. 2015;159:118-123.
26. Ooto S, Hangai M, Sakamoto A, et al. High-resolution imaging of resolved central serous chorioretinopathy using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Ophthalmology*. 2010;117:1800-1809.
27. Scoles D, Sulai YN, Langlo CS, et al. In vivo imaging of human cone photoreceptors inner segments. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:4244-4251.
28. Lujan BJ, Roorda A, Knighton RW, Carroll J. Revealing Henle's fiber layer using spectral domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:1486-1492.
29. Lujan BJ, Roorda A, Croskrey JA, et al. Directional optical coherence tomography provides accurate outer nuclear layer and Henle fiber layer measurements. *Retina*. 2015;35:1511-1520.
30. Otani T, Yamaguchi Y, Kishi S. Improved visualization of Henle fiber layer by changing the measurement beam angle on optical coherence tomography. *Retina*. 2011;31:497-501.
31. Knighton RW, Huang XR. Directional and spectral reflectance of the rat retinal nerve fiber layer. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999;40:639-647.
32. Paques M, Miloudi C, Leseigneur A, Chaumette C, Koch E. High resolution imaging of Gunn's dots. *Retina*. 2015;35:120-124.

4.3 Méthode d'intégration de la variabilité angulaire de la réflectance des cônes dans la cartographie

L'effet Stiles-Crawford optique (OSCE) décrit la réflectance directionnelle des cônes. La façon dont cela affecte l'imagerie des cônes dans le cas des yeux malades est peu connue. Ici, nous avons étudié par OA en imagerie « en face » la réflectance directionnelle des cônes chez les patients récupérant de maladies maculaires y compris d'œdème maculaire.

4.3.1 Méthodes de prétraitement et d'analyse d'images utilisées

Le protocole d'acquisition permet d'obtenir jusqu'à cinq images OA d'une même zone à différents angles de vue comme le montre la *Figure 61* dans la section 4.1.1.

La procédure permettant de fusionner un nombre N d'images (entre 2 et 5) à des angles différents est la suivante :

- uniformisation de la luminance entre les images. La méthode utilisée est la même que dans la section 3.2. Elle consiste en un étirement d'histogramme pour mettre les images à la même luminance que celle qui a été sélectionnée manuellement comme référence ;
- recalage des images avec i2k [Yang 2007] (section 2.2.1) ;
- détection automatique des cônes [Loquin 2011] et calcul de la distance minimale inter-cônes utilisée comme seuil ε pour l'appariement. Chaque cône est assimilé au point du cône dont l'intensité est maximale (nous l'appelons centre optique dans la suite du manuscrit) pour le calcul de ces distances ;
- fusion d'images multi-angles : il s'agit de rechercher dans N images, les groupes de N cônes espacés les uns des autres d'une distance inférieure au seuil ε . Il s'agit du même seuil que celui que nous avons évoqué dans la partie 3.3.1, pour lequel nous avons choisi de prendre la distance minimale inter-cônes mesurée au moment de la détection automatique [Loquin 2011]. Par exemple pour trois images J , I et K , en considérant P_j un point de l'image J , l'ensemble des appariements possibles pour les trois images peut s'écrire :

$$(9) \quad A_{JK} = \{(P_j, P_i, P_k) / \{(d(P_j, P_i) \leq \varepsilon) \& (d(P_j, P_k) \leq \varepsilon) \& (d(P_i, P_k) \leq \varepsilon)\}\}$$

avec A_{JK} l'ensemble des triplets de points (P_j, P_i, P_k) tels que ces points soient distants deux à deux d'une distance inférieure au seuil ε , et $d(P_i, P_k)$ la distance euclidienne entre les points P_i et P_k .

Si dans une même image il existe plusieurs candidats à une distance de P_j inférieure à ε , c'est celui correspondant à la distance la plus faible qui est retenu pour l'appariement. Le cas de plus de deux candidats n'a pas été rencontré dans la

pratique. Il s'agit de mettre à jour l'ensemble de façon à ce qu'il n'y ait pas un même point d'une image qui apparaisse dans plusieurs triplets.

L'ensemble des triplets de points appariés présents dans les trois images peut donc se noter Q_{JK} :

$$(10) \quad Q_{JK} = \left\{ P_j, P_i, P_k \mid \left\{ \begin{array}{l} d(P_j, P_i) \leq \varepsilon \ \& \ d(P_j, P_k) \leq \varepsilon \ \& \ d(P_i, P_k) \leq \varepsilon \\ P_i = \arg \min_{P_l \in A(P_j)} \{d(P_j, P_l)\} \\ P_k = \arg \min_{P_m \in A(P_j)} \{d(P_j, P_m)\} \end{array} \right\} \right\}$$

La liste des cônes qui n'ont pas été appariés à cette étape est utilisée à la deuxième étape pour l'appariement des cônes visibles dans les images J et I et ainsi de suite. Lorsqu'une liste de points appariés (P_j, P_i, P_k) correspondant aux cônes respectifs des images J , I , et K a été établie (soit l'ensemble Q_{JK} , il reste à établir les listes correspondant aux appariements entre les couples d'images J et I (couple de cônes visibles uniquement dans les images J et I , noté Q_{JI}), J et K (couple de cônes visibles uniquement dans les images J et K , noté Q_{JK}), I et K (couple de cônes visibles uniquement dans les images I et K , noté Q_{IK}) et enfin les cônes visibles dans une seule image que l'on notera Q_J , Q_I , et Q_K respectivement.

Ce processus n'est pas symétrique en fonction des trois images, et le choix de celle choisie pour J peut avoir une légère influence sur la carte finale, mais nous faisons l'hypothèse que cela est négligeable.

Dans le cas de trois images, le processus de recherche des appariements peut donc se diviser en quatre étapes consécutives correspondant à la recherche d'appariement dans les groupes d'images dans l'ordre suivant : J - I - K , J - I , J - K , I - K . Chaque étape de recherche d'appariements est réalisée sur les points qui n'ont pas été appariés à l'étape précédente comme l'illustre le schéma de la *Figure 66*:

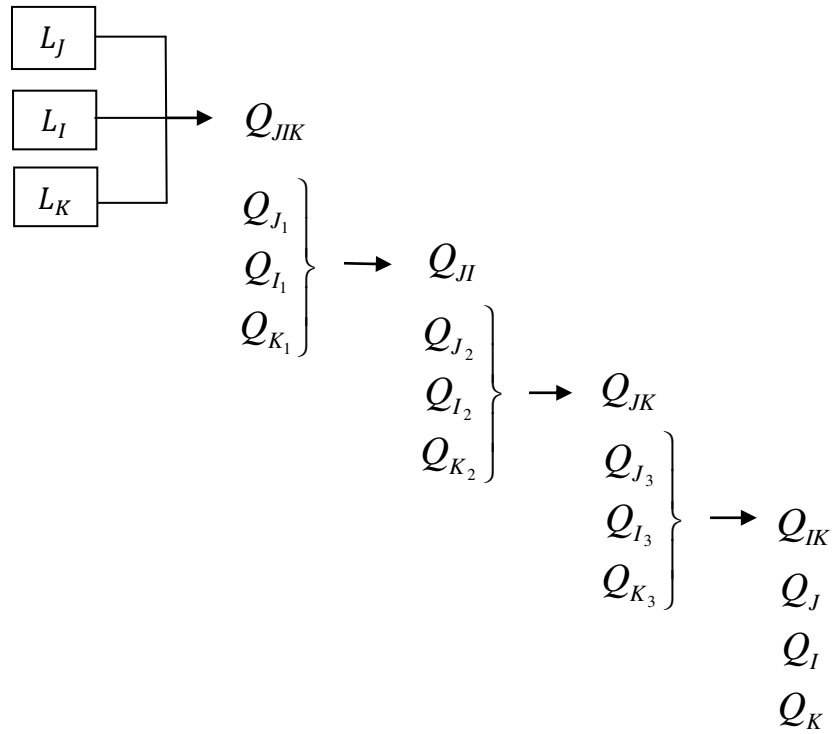


Figure 66 : Illustration de la procédure de recherche des appariements dans un groupe de trois images. L_J , L_I , et L_K sont les listes des positions des cônes respectivement dans les images J , I et K . On note Q_{J_1} l'ensemble des cônes de l'image J non appariés à l'étape 1.

Pour chaque groupe de points (cônes) appariés, c'est celui ayant la réflectance la plus élevée qui est retenue et positionné sur la carte. Parmi les cônes restants qui n'ont pas été appariés dans les trois images, on recherche les cônes à apparier deux à deux parmi les différents couples d'images possibles « $J-I$ », « $J-K$ » et « $I-K$ ». De la même manière que précédemment, c'est la position du cône le plus réflectif qui est retenu dans la carte. Enfin, les cônes restants non appariés correspondent à ceux qui ne sont visibles que dans une seule image.

La dernière étape consiste à rechercher dans la carte obtenue s'il y a des cônes espacés d'une distance inférieure au seuil ε . Si c'est le cas, le cône le moins réflectif est éliminé et le plus réflectif est conservé. La base de données des points de la carte est alors mise à jour.

Au cours de ce processus de fusion, une base de données est construite en indiquant pour chaque cône de la carte les réflectances dans chaque incidence. Ainsi pour chaque cône, il est possible d'obtenir sa position dans la carte finale et l'incidence pour laquelle il a la réflectance la plus élevée.

Dans la *Figure 67*, un exemple de fusion de trois images d'un sujet sain est illustré.

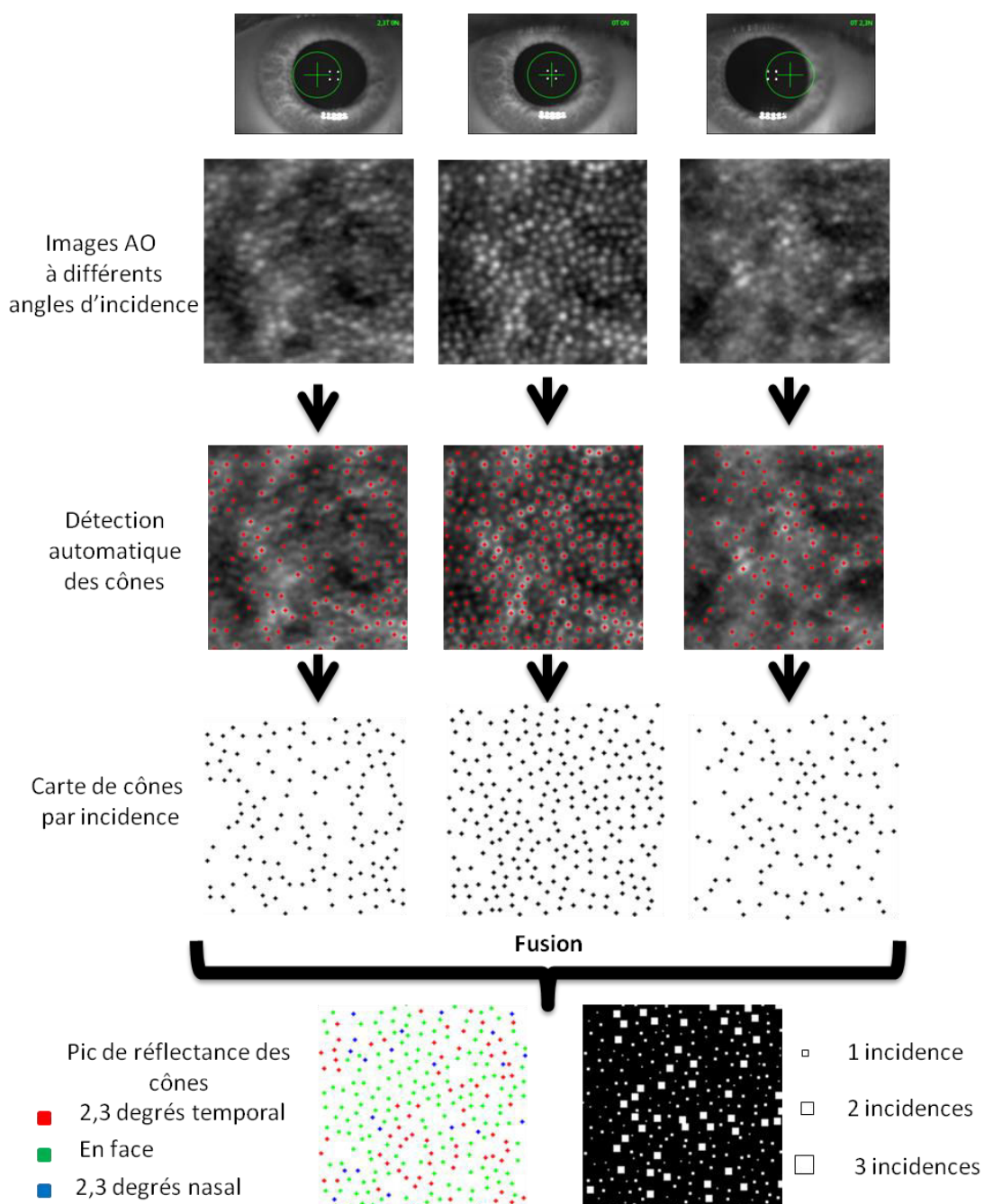


Figure 67 : Illustration de la procédure de fusion d'images d'angles différents dans le cas d'un sujet sain. Images de taille 116 x 116 μm^2 .

4.3.2 Procédure d'évaluation

Les images OA du fond d'œil ont été obtenues avec la caméra utilisant l'OA (caméra RTX1 dTM; Imagine Eyes, Orsay, France) dans 6 yeux normaux et des yeux se remettant d'un œdème maculaire (6 cas), ou ayant des télangiectasies maculaires (3 cas) ou la récupération d'un décollement de rétine séreuse (1 cas). Les sujets ont subi une dilatation de la pupille au préalable.

Les densités de cônes ont été comparées dans des ensembles de trois images avec trois pupilles d'entrée différentes : l'une à travers la cornée centrale (appelée ici l'image coaxiale) et deux après déplacement latéral de la pupille d'entrée de 2,3 degrés dans les deux directions (verticale et horizontale). Les cartes de fusion ont été construites après le recalage de trois cartes. Les caractéristiques optiques du contrôle et de la rétine malade ont été analysées dans les régions homologues. L'intérêt de travailler sur des groupes de trois images est que cela permet une meilleure appréciation visuelle de l'évolution de la réflectance de la mosaïque.

Le même test a été réalisé sur des ensembles de cinq images obtenues avec cinq pupilles d'entrée différentes.

Appréciation visuelle :

Après la fusion des images, il est possible d'avoir de nombreux modèles d'affichage :

- simple position des cônes,
- position des cônes avec un code de couleur indiquant l'angle de réflectance maximum (indice d'orientation du cône, exemples des *Figure 67* et *Figure 68*),
- position des cônes avec indication du nombre d'angles de visibilité pour chaque cône (exemples des *Figure 67* et *Figure 68*).

L'affichage des simples positions des cônes permet d'avoir les informations quantitatives telles que le nombre de cônes dans la zone cartographiée, la densité des cônes et l'espace inter-cônes. Il ne fournit pas d'informations sur le comportement anisotrope des cônes cartographiés.

L'ajout d'un code de couleur se fait avec l'hypothèse que l'orientation privilégiée d'un cône correspond à l'image (prise avec une certaine pupille d'entrée) avec laquelle il a présenté la réflectance la plus importante. Cette hypothèse demeure limitée dans la mesure où les procédures de traitement du système d'acquisition peuvent influencer sur les réflectances observées, même si nous réalisons une uniformisation de luminance entre les images.

Le nombre d'angles de visibilité d'un cône est calculé en fonction du nombre d'images dans lesquelles un cône a été détecté. Cette information est plus fiable que l'orientation puisqu'elle correspond à des changements de réflectance beaucoup plus importante. La forte atténuation de la réflectance de certains cônes aboutissant à leur absence de détection, peut être liée à la procédure de moyennage (surtout dans les yeux normaux) mais aussi à leurs orientations particulières et à des dysfonctionnements (notamment chez les sujets pathologiques) correspondant à une altération de leur orientation. Le nombre d'images observées est au maximum de cinq. Le choix s'est porté sur cinq pupilles d'entrées (*Figure 61*), car elles permettent de recouvrir l'ensemble des orientations possibles, mais surtout parce

qu'il a été considéré, pour les régions observées, que la gaussienne de réflectance des cônes présente un écart type suffisamment grand.

Evaluation quantitative :

Après chaque fusion de trois images, la densité moyenne dans la carte de fusion est calculée. Les densités des cartes de fusion sont comparées aux densités dans les images « en face ». Le résultat attendu (et également observé) est que le gain de la fusion des images chez les sujets pathologiques, en termes de densité, est beaucoup plus important que chez les sujets sains car l'effet Stiles-Crawford est considérablement détérioré dans le cas de maladies. Un exemple de fusion de trois images sur une lésion maculaire est présenté en *Figure 68*.

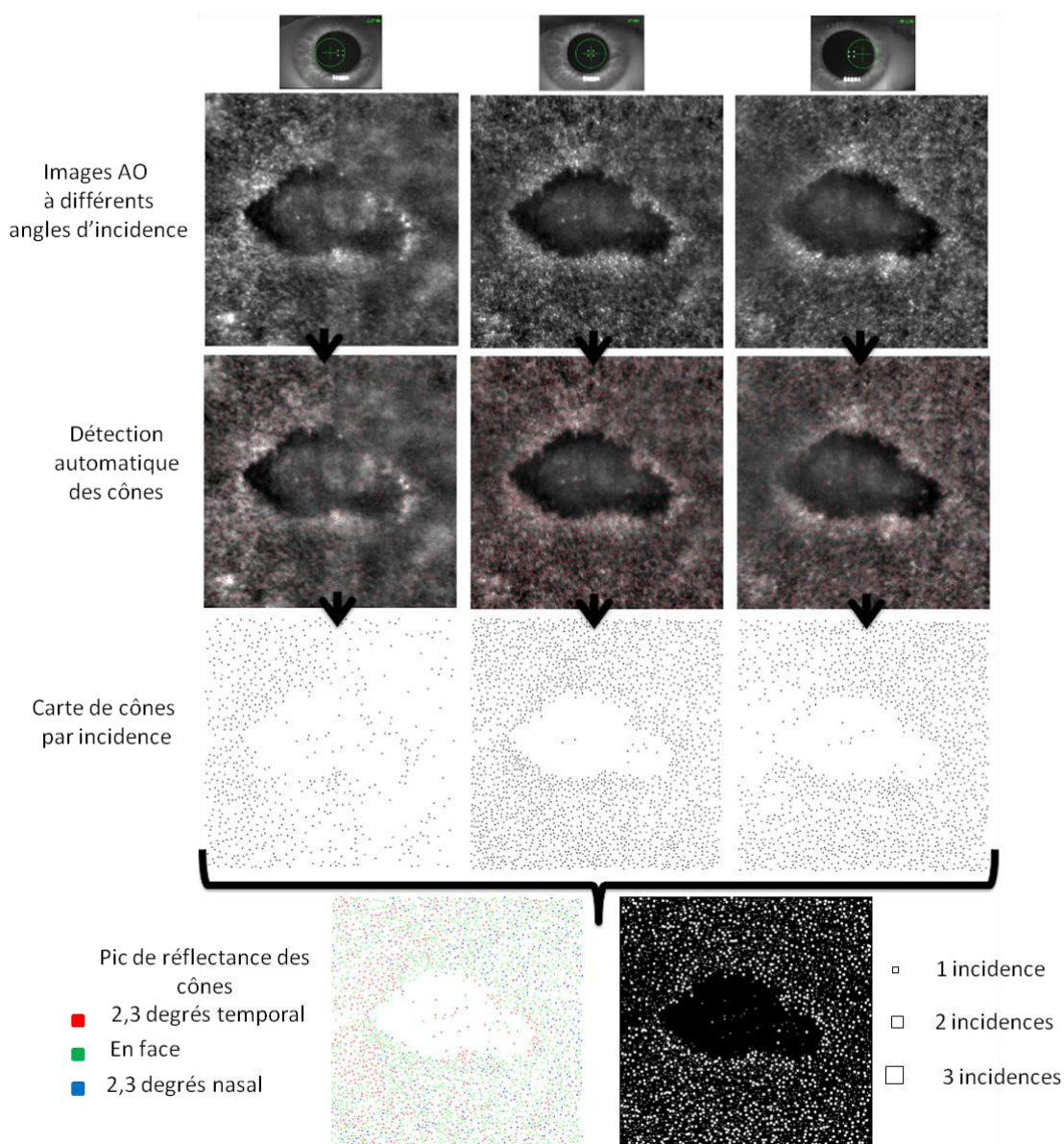


Figure 68 : Illustration de la fusion de trois incidences dans le cas d'un œil présentant une lésion maculaire. Images de taille 409 x 409 μm^2 .

Dans la *Figure 68*, les images prises à différentes pupilles d'entrée montrent des résultats de détection différents les uns par rapport aux autres. Si l'on affiche la carte des orientations, on constate que les pics de réflectance des cônes sont présents dans les trois images (en bas à gauche de la figure). La carte indiquant le nombre d'incidences (en bas à droite) montre un nombre important de cônes visibles sous une seule incidence, ce qui nous indique que les trois incidences doivent être prises en compte pour améliorer la cartographie.

4.3.3 Analyse des résultats

- Résultats de fusion de trois pupilles d'entrée pour les axes 9h-0h-3h et 12h-0h-6h

Les images AO ont permis de mettre en évidence des défauts des structures photoréceptrices. En effet, la comparaison des images AO à différentes pupilles d'entrée a montré que, dans les zones malades, 65% (intervalle de 44 à 80%) des cônes n'ont été détectés que par une seule pupille d'entrée sur trois, contre 39% (intervalle de 27 à 46%) dans les sujets de contrôle. La fusion des cartes a augmenté le nombre de cônes détectés de 63% en moyenne (intervalle de 19 à 122%) chez les sujets malades contre 24% (intervalle de 7 à 64%) chez les sujets de contrôle (pourcentage calculé par rapport au nombre de cônes dans l'image « en face »). Le nombre de cônes final sur les cartes de fusion variaient de 34% à 72% par rapport aux sujets sains (contrôles).

Ces informations indiquent un changement important dans le comportement anisotrope des cônes chez les sujets malades. Il se manifeste par un changement important de l'OSCE chez les sujets malades comparé aux sujets de contrôle. Si le nombre de cônes qui ne peuvent être détectés que par une seule pupille d'entrée est plus important chez les sujets pathologiques, la fusion des images multi-angles est d'autant plus nécessaire pour ces sujets.

- Résultats de fusion de cinq pupilles d'entrée

Nous avons, dans un premier temps, mesuré le pourcentage de cônes visibles uniquement « en face » et comparé les mesures entre les sujets sains et les sujets pathologiques. Nous avons fait l'hypothèse qu'un pourcentage de cônes visibles uniquement en face pouvait être un indicateur d'un SCE détérioré.

Les cônes visibles uniquement en face sont ceux dont on peut avoir l'idée la plus précise de leur orientation (dans l'axe central), contrairement à ceux qui sont visibles sur plusieurs incidences. Malheureusement nous n'avons pas trouvé de différences notables concernant cette mesure dans notre cohorte de 12 sujets : en effet le pourcentage de cônes visibles uniquement « en face » chez les sujets malades est de $15 \pm 7 \%$ contre $8 \pm 5 \%$ chez les contrôles.

Dans un second temps, le nombre de cônes dans la carte de fusion a été comparé à celui dans l'image « en face » afin d'évaluer l'apport de la fusion de différentes pupilles d'entrée pour la cartographie des cônes.

Dans les *Tableau 16* et *Tableau 17* sont présentés les résultats des mesures de densité dans les cartes de fusion et dans les images « en face ».

	Densité mesurée dans image « en face » (cônes/mm ²)	Densité mesurée dans carte de fusion (cônes/mm ²)
Sujet 1	5575	18448
Sujet 2	3556	8724
Sujet 3	4313	7265
Sujet 4	4983	9293
Sujet 5	12725	18340
Sujet 6	4683	9477
Témoin 1	19064	21990
Témoin 2	14662	20257
Témoin 3	17214	20861
Témoin 4	17443	21248
Témoin 5	10839	20592
Témoin 6	11534	17909

Tableau 16 : Résultats de la fusion de cinq pupilles d'entrée. Comparaison des densités de cônes obtenues sur les cartes de fusion avec les densités mesurées dans les images « en face ».

	Densité moyenne images « en face » (cônes/mm ²)	Densité moyenne cartes de fusion (cônes/mm ²)	Gain (%)	p
Témoins (n=6)	15126±3368	20476±1391	26%	<0,01
Sujets pathologiques (n=6)	5972±3376	11924±5071	49%	0,03

Tableau 17 : Résultats de fusion de cinq pupilles d'entrée. Comparaison des densités moyennes dans les images « en face » et les cartes de fusion chez les sujet témoins et les sujets pathologiques (cas d'œdèmes maculaires), et calcul des gains obtenus avec la fusion d'image par rapport à l'image « en face ».

Les résultats obtenus confirment l'hypothèse de départ selon laquelle la fusion de différents angles pour les sujets pathologiques permet un gain de détection plus élevé par rapport aux sujets sains. Ainsi, l'intégration d'images AO prises à différentes pupilles d'entrée améliore la caractérisation de la densité des cônes.

Après un œdème rétinien, les cônes montrent des modifications frappantes de leurs propriétés optiques. Ces changements peuvent participer à la déficience visuelle. D'autres investigations sont nécessaires pour déterminer si cela est dû à l'augmentation de l'OSCE et / ou à un désalignement des cônes, l'évolution de ces changements au fil du temps et leur présence dans d'autres maladies de la rétine.

Les dimensions des images étudiées sont arbitraires de façon à recouvrir toute la lésion chez les sujets pathologiques. Chez les sujets sains, les dimensions utilisées sont du même ordre de grandeur que chez les sujets pathologiques. La comparaison avec les densités théoriques n'a pas été effectuée dans le cadre de cette étude car les dimensions des images étudiées sont trop grandes (entre 300 x300 μm^2 et 500 x500 μm^2) et les positions nasale et temporale de certaines images ne permettent pas une comparaison aisée avec les données histologiques.

Pour conclure, nous avons montré dans cette partie l'importance de tenir compte de l'OSCE des cônes pour construire des cartographies plus complètes. Cette démarche est d'autant plus pertinente s'il s'agit d'un sujet pathologique.

4.4 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons montré deux méthodes d'analyse d'image qui montrent l'importance clinique de l'effet Stiles-Crawford pour l'interprétation des images en OA. La première est une preuve de concept basée sur l'observation de mosaïques négatives dans les images périphériques de cônes et la comparaison avec les données OCT. La seconde est une procédure allant de l'acquisition standardisée aux traitements d'image permettant de construire des cartographies améliorées à partir de plusieurs angles d'acquisition. Cette dernière a montré de façon frappante la détérioration de l'effet Stiles-Crawford dans les cas pathologiques par rapport aux cas sains, ce qui corrobore l'idée que ce phénomène peut être utilisé comme un indicateur de l'état de santé des cônes.

Conclusions et perspectives

La variabilité temporelle et spatiale de l'imagerie in vivo des photorécepteurs humains et les moyens logiciels pour les compenser ont été au cœur de cette thèse. Nous avons tout d'abord démontré que, même chez les sujets normaux examinés par les systèmes d'imagerie à haute résolution utilisés en routine clinique, l'effet Stiles-Crawford pouvait modifier profondément la réflectance des cônes. Ensuite, en combinant différentes approches, nous avons mis au point des procédures de fusion d'images d'optique adaptative plein champ qui permettent de compenser à la fois la variabilité temporelle et la variabilité spatiale. Nous avons démontré chez le sujet sain que cela permet de rapprocher le nombre de cônes détectés sur les images OA des références histologiques.

Notre travail a été limité par les systèmes d'imagerie eux-mêmes. En effet, les systèmes utilisés ne permettent pas une mesure quantitative de la réflectance tissulaire, ni une mesure précise de l'angle de la lumière incidente par rapport à la rétine, ni une analyse de la fréquence de scintillation. Nous n'avons pas étudié l'effet de la combinaison de la compensation temporelle et spatiale, faute de temps. Cependant, nous avons quelques données préliminaires qui semblent indiquer que les deux approches donnent des résultats comparables chez le sujet sain ; autrement dit, la compensation d'une seule des deux variabilités peut suffire à restaurer un comptage "vrai" des photorécepteurs. Il reste cependant à démontrer que c'est également le cas pour les rétines pathologiques. Enfin, seul un petit nombre d'angles d'incidence ont été explorés, ne permettant pas une mesure précise de l'orientation des photorécepteurs.

Nos travaux ont essentiellement porté sur la rétine saine. Les perspectives (et le réel objectif médical) de notre approche est cependant de permettre d'améliorer le diagnostic et le suivi thérapeutique des sujets atteints de maladies de la rétine. Malgré les limites de notre travail, ces travaux permettront non seulement une meilleure analyse de la densité des photorécepteurs, mais serviront également de base à l'analyse de l'orientation des photorécepteurs. La désorganisation du strict parallélisme des photorécepteurs pourrait être en effet une cause de perte fonctionnelle visuelle. La quantification de la perte du parallélisme des photorécepteurs est une piste prometteuse pour comprendre l'origine de la perte visuelle au cours de nombreuses maladies de la rétine. Une autre perspective prometteuse est celle de la quantification de l'amplitude de l'effet Stiles-Crawford (angle d'acceptance) ; il serait intéressant de rechercher si cet effet Stiles-Crawford peut être augmenté (autrement dit si l'angle d'acceptance peut diminuer) au cours de pathologies de la rétine. Si cet effet est bien lié à la taille des cônes, il est possible qu'une pathologie se traduisant par une augmentation de la taille des cônes se traduise par un angle d'acceptance diminué (autrement dit une accentuation de l'effet Stiles-Crawford) ce qui pourrait diminuer la fonction visuelle car alors le moindre désalignement ferait chuter le nombre de cônes détectés.

Cette thèse montre l'intérêt des approches de fusion d'image (et par conséquent de l'analyse différentielle) pour toutes les modalités d'imagerie à haute résolution de la rétine et donc en particulier pour la tomographie de cohérence optique. Ces résultats suggèrent donc des pistes nouvelles pour l'amélioration de l'information médicale qu'il est possible d'obtenir de ces systèmes, et devront donc être prises en compte par les concepteurs de systèmes d'imagerie de la rétine pour les nouvelles générations d'appareils.

Annexe

Rappels sur les tests statistiques utilisés dans les chapitres 3 et 4

Cette annexe est très largement inspirée de l'ouvrage [Millot 2014].

1) Test de normalité de Shapiro-Wilk

En statistique, le test de Shapiro teste l'hypothèse nulle selon laquelle un échantillon $x_1, \dots, x_n$ est issu d'une population normalement distribuée. Il a été publié en 1965 par Samuel Shapiro et Martin Wilk. Comparé aux autres tests existants, il est très puissant pour les petits échantillons ($n < 50$).

Application

Ajustement d'une distribution observée à une loi normale.

Variable mesurée

Une variable quantitative.

Conditions d'application

- Les individus formant l'échantillon doivent être choisis un par un et aléatoirement dans l'ensemble de la population visée.
- La variable quantitative peut être continue ou discrète.

Il est possible d'utiliser d'autres tests comme le test de Kolmogorov-Smirnov (non décrit) pour tester une autre loi de probabilité théorique et au test de χ^2 de conformité (non décrit) si la variable mesurée présente des valeurs identiques.

Hypothèse de test

H_0 : la variable suit une loi normale dans la population visée.

$H_{1\ bilat}$: la variable ne suit pas une loi normale dans la population visée.

Loi de probabilité suivie par la VT (Variable de Test) sous H_0

Il n'existe pas de formule associée à la distribution de probabilité suivie par la VT W . Le calcul de la valeur de p est complexe.

Calcul de la VT

Le tableau initial est le suivant :

<i>Individu</i>	<i>Variable quantitative x</i>
1	x_1
...	...
i	x_i
...	...
n	x_n

i : numéro de l'individu

n : effectif total de l'échantillon

x_i : valeur de la variable quantitative x de l'individu i

Ce tableau est modifié en un tableau dans lequel les lignes sont réparties par ordre croissant de x :

<i>Rang</i>	<i>Variable quantitative x</i>
1	x_1
...	...
r	x_r
...	...
n	x_n

r : rang de x_r , soit sa position dans la séquence ordonnée

x_r : valeur de la variable quantitative x dans la séquence ordonnée (les valeurs de x_r sont en ordre croissant)

Formule de la VT:

$$W = \frac{(\sum_{r=1}^n a_r x_r)^2}{\sum_{r=1}^n (x_r - m)^2}$$

Avec :

W : VT

a_r : valeur de la série ordonnée théorique de Shapiro-Wilk

m : moyenne de la variable x

Les n valeurs a_r sont fournies par des tables [Shapiro & Wilk 1965]. Il est difficile de les obtenir par le calcul.

Conclusions du test

Si H_0 ne peut être rejetée (valeur de $p \geq 5\%$) : Rien ne permet de réfuter, pour l'instant, que la variable suit une loi normale dans la population visée. Dans certains cas, H_0 peut être acceptable (avec un risque β de se tromper en affirmant cela, voir 5)).

Si H_0 peut être rejetée (valeur de $p \leq 5\%$) : la variable ne suit pas de loi normale dans la population visée (avec le risque α de se tromper en affirmant cela, voir 5)).

La statistique W peut donc être interprétée comme le coefficient de détermination (le carré du coefficient de corrélation) entre la série des quantiles générés à partir de la loi normale et les quantiles empiriques obtenus à partir des données. Plus W est élevé, plus la compatibilité avec la loi normale est crédible.

Le test de Shapiro peut être réalisé avec le logiciel R (<http://www.r-project.org>) en utilisant la ligne de commande `test.shapiro()`. L'hypothèse nulle est que l'échantillon suit une loi normale, donc si le test renvoie une valeur de $p < 0.05$ (seuil de 5%), l'échantillon ne suit pas une loi normale). Voir 5) pour la méthode de calcul de p .

2) Test t de Student de comparaison de moyennes

- Comparaison d'une moyenne observée à une valeur théorique

Application

Comparaison d'une moyenne observée à une valeur théorique $m_{théo}$

Variable mesurée

Une variable quantitative

Conditions d'application

- les individus formant l'échantillon doivent être choisis un par un et aléatoirement dans l'ensemble de la population visée
- la variable quantitative doit suivre une loi normale dans la population visée
- la variable quantitative peut être continue ou discrète

Si ces conditions ne sont pas remplies, on utilise plutôt le test des signes de Wilcoxon décrit plus loin.

Hypothèses de test

$H_0 : \mu = m_{théo}$ la moyenne théorique est égale à la moyenne réelle dans la population visée.

$H_{1\ bilat} : \mu \neq m_{théo}$ la moyenne théorique n'est pas la moyenne réelle dans la population visée.

$H_{1\text{ unilat } d} : \mu > m_{théo}$ la moyenne réelle est strictement supérieure à la moyenne théorique dans la population visée.

$H_{1\text{ unilat } g} : \mu < m_{théo}$ la moyenne réelle est strictement inférieure à la moyenne théorique dans la population visée.

Loi de probabilité suivie par la variable de test (VT) sous H_0 :

La VT suit une loi de Student à $\nu=n-1$ degrés de libertés (ddl).

Calcul de la VT :

Le tableau initial est le suivant :

<i>Individu</i>	<i>Variable</i>
1	x_1
...	
i	x_i
...	
n	x_n

i : numéro de l'individu

n : effectif total de l'échantillon

x_i : valeur de la variable quantitative de l'individu i

Formule de la VT : $t = \frac{m - m_{théo}}{\frac{s}{\sqrt{n}}}$

t : VT

m : moyenne de la variable quantitative

$m_{théo}$: moyenne théorique

s : écart type non biaisé de la variable quantitative

n : effectif total de l'échantillon

Conclusions du test

Si H_0 ne peut être rejetée (valeur de $p \geq 5\%$) : la différence entre m et $m_{théo}$ n'est pas significative : elle ne semble due qu'à la fluctuation d'échantillonnage. Donc, rien ne permet de réfuter, pour l'instant, que la moyenne $m_{théo}$ est celle existant dans la population visée. Dans certains cas, H_0 peut être acceptable (avec le risque β de se tromper en affirmant cela, voir 5)).

Si H_0 peut être rejetée (test bilatéral, valeur de $p \leq 5\%$) : la différence entre m et $m_{théo}$ est significative : elle n'est pas simplement due à la fluctuation d'échantillonnage. La moyenne $m_{théo}$ n'est donc pas celle existant dans la population visée (avec un risque α de se tromper en affirmant cela, voir 5)).

Dans le logiciel R (<http://www.r-project.org>), la commande `t.test()` peut être utilisée. L'intervalle de confiance est de 95% par défaut. Ainsi la valeur de p obtenue (voir méthode de

calcul dans le paragraphe 5)) est suffisamment faible (de moins de 5%), l'hypothèse H_0 peut être rejetée.

- Comparaison de deux moyennes observées

Application

Comparaison de deux moyennes observées m_1 et m_2 .

Variables mesurées

Une variable quantitative et une variable qualitative à deux classes. La variable qualitative est celle qui permet de définir les deux classes de l'échantillon.

Conditions d'application

- Les individus formant l'échantillon doivent être choisis un par un et aléatoirement dans l'ensemble de la population visée.
- Les classes de la variable qualitative doivent être exclusives.
- Dans la population visée, les distributions de la variable quantitative dans chacune des classes de la variable qualitative doivent suivre une loi normale.
- Les variances de la variable quantitative dans chacune des classes de la variable qualitative doivent être identiques dans la population visée ($\sigma^2 = \sigma_1^2 = \sigma_2^2$).
- La variable quantitative peut être continue ou discrète.
- La variable qualitative est nominale.
- La variable qualitative peut être fixée.

Hypothèses de test

$H_0 : m_1 = m_2$ les moyennes des deux classes sont identiques dans la population visée.

$H_{1\ bilat} : m_1 \neq m_2$ les moyennes sont différentes dans la population visée.

$H_{1\ unilat\ d} : m_1 > m_2$ la moyenne m_1 est strictement supérieure à la moyenne m_2 dans la population visée.

$H_{1\ unilat\ g} : m_1 < m_2$ la moyenne m_1 est strictement inférieure à la moyenne m_2 dans la population visée.

Loi de probabilité suivie par la variable de test (VT) sous H_0 :

La VT suit une loi de Student à $\nu = n_1 + n_2 - 2$ degrés de libertés (ddl).

Calcul de la VT :

On peut utiliser deux tableaux de test pour représenter le problème, un pour chaque classe qualitative :

<i>Individu</i>	<i>Classe 1 de la variable qualitative</i>
1	x_{11}
...	
j	x_{j1}
...	
n_1	$x_{n_1 1}$

<i>Individu</i>	<i>Classe 2 de la variable qualitative</i>
1	x_{12}
...	
g	x_{g2}
...	
n_2	$x_{n_2 2}$

j : numéro de l'individu dans la classe 1 de la variable qualitative

g : numéro de l'individu dans la classe 2 de la variable qualitative

n_1 : effectif de la classe 1

n_2 : effectif de la classe 2

n : effectif total de l'échantillon ($n = n_1 + n_2$)

x_{j1} : valeur de la variable quantitative de l'individu j dans la classe 1 de la variable qualitative

x_{g2} : valeur de la variable quantitative de l'individu g dans la classe 2 de la variable qualitative

Formule de la VT :

$$m_1 = \frac{1}{n_1} \sum_{j=1}^{n_1} x_{j1} \text{ et } m_2 = \frac{1}{n_2} \sum_{g=1}^{n_2} x_{g2}$$

$$t = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\hat{s}^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \text{ avec } \hat{s}^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

t : VT

m_1 : moyenne de la variable quantitative dans la classe 1

m_2 : moyenne de la variable quantitative dans la classe 2

$\hat{s}^2$: estimation de σ^2

s_1^2 : variance non biaisée de la variable quantitative dans la classe 1

s_2^2 : variance non biaisée de la variable quantitative dans la classe 2

n_1 : effectif de la classe 1

n_2 : effectif de la classe 2

Conclusions de test

Si H_0 ne peut être rejetée (valeur de $p \geq 5\%$) : la différence entre m_1 et m_2 n'est pas significative. Elle ne semble due qu'à la fluctuation d'échantillonnage. Donc, rien ne permet de réfuter, pour l'instant que les moyennes μ_1 et μ_2 sont identiques dans la population visée. Dans certains cas, H_0 peut être acceptable (avec le risque β de se tromper en affirmant cela, voir paragraphe 5)).

Si H_0 peut être rejetée (test bilatéral, valeur de $p \leq 5\%$) : la différence entre m_1 et m_2 est significative et n'est pas simplement due à la fluctuation d'échantillonnage. Les moyennes m_1 et m_2 sont donc différentes dans la population visée (avec le risque α de se tromper en affirmant cela, voir paragraphe 5)).

De la même manière que précédemment ce test peut être réalisé en utilisant la commande `t.test()` dans le logiciel R.

3) Test de Welch pour la comparaison de deux moyennes observées avec variances différentes

Le test de Welch dérive du test t de comparaison de deux moyennes observées précédent. Seules les modifications apportées par la technique de Welch sont indiquées dans ce paragraphe.

Conditions d'application

Ce sont les mêmes que celles du test t, mais sans la quatrième condition sur l'égalité des variances.

Si les conditions ne sont toujours pas remplies, on pourra se reporter au test des signes de Wilcoxon décrit plus loin.

Loi de probabilité suivie par la VT sous H_0

La VT suit une loi de Student à ν degrés de liberté (ddl) avec $\nu = \frac{(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2})^2}{\frac{(\frac{s_1^2}{n_1})^2}{n_1-1} + \frac{(\frac{s_2^2}{n_2})^2}{n_2-1}}$

s_1^2 : variance non biaisée de la variable quantitative dans la classe 1

s_2^2 : variance non biaisée de la variable quantitative dans la classe 2

n_1 : effectif de la classe 1

n_2 : effectif de la classe 2

Calcul de la VT : $t = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$

t : VT

m_1 : moyenne de la variable quantitative dans la classe 1

m_2 : moyenne de la variable quantitative dans la classe 2

s_1^2 : variance non biaisée de la variable quantitative dans la classe 1

s_2^2 : variance non biaisée de la variable quantitative dans la classe 2

n_1 : effectif de la classe 1

n_2 : effectif de la classe 2

4) Test des signes de Wilcoxon dans le cas de séries appariées

Le test des signes de Wilcoxon (ou test des rangs signés de Wilcoxon) permet de comparer deux médianes observées en séries appariées.

Application

Comparaison de deux médianes m_{e1} et m_{e2} observées sur deux séries appariées.

Variables mesurées

Une variable quantitative et une variable qualitative à deux classes formant deux séries appariées.

Conditions d'application

- Les individus formant l'échantillon doivent être choisis un par un et aléatoirement dans l'ensemble de la population visée.
- Chaque individu doit être dans les deux classes de la variable quantitative.
- La distribution des différences d_i doit être symétrique dans la population visée.
- La variable peut être quantitative continue, quantitative discrète ou semi qualitative.
- La variable qualitative est nominale.

Hypothèses de test

$H_0 : M_{e1} = M_{e2}$ les médianes sont identiques dans la population visée.

$H_{1\ bilat} : M_{e1} \neq M_{e2}$ les médianes sont différentes dans la population visée.

$H_{1\ unilat\ d} : M_{e1} > M_{e2}$ la médiane M_{e1} est strictement supérieure à la médiane M_{e2} dans la population visée.

$H_{1\ unilat\ g} : M_{e1} < M_{e2}$ la médiane M_{e1} est strictement inférieure à la médiane M_{e2} dans la population visée.

Loi de probabilité suivie par la VT sous H_0

Il n'existe pas de formule associée à la distribution de probabilité suivie par la VT. La valeur de p est calculée par combinatoire (voir paragraphe 4)).

Par contre, si la taille de l'échantillon est grand ($n \geq 50$) ou s'il existe au moins deux valeurs de même rang, ou s'il existe au moins une valeur d_i nulle, il est possible d'obtenir une valeur de p à l'aide de la VT Z_{v+} qui suit approximativement une loi normale $N(0,1)$.

Calcul de la VT sur l'échantillon sans valeurs de différence identiques ou nulles

Le tableau initial est le suivant :

<i>Individu</i>	Variable G	
	<i>1^{ère} mesure</i>	<i>2^{ème} mesure</i>
1	x_{11}	x_{12}
...	...	...
<i>i</i>	x_{i1}	x_{i2}
...	...	...
<i>n</i>	x_{n1}	x_{n2}

i : numéro de l'individu

n : effectif totale de l'échantillon

x_{i1} : valeur de la variable quantitative de l'individu *i* dans la classe 1 « 1^{ère} mesure » de la variable qualitative G

x_{i2} : valeur de la variable quantitative de l'individu *i* dans la classe 2 « 2^{ème} mesure » de la variable qualitative G

Le tableau intermédiaire est le suivant :

<i>Individu</i>	Variable G			
	<i>1^{ère} mesure</i>	<i>2^{ème} mesure</i>	<i>Différence</i>	<i>Signe de d_i</i>
1	x_{11}	x_{12}	d_1	c_1
...	...	...		
<i>i</i>	x_{i1}	x_{i2}	d_i	c_i
...	...	...		
<i>n</i>	x_{n1}	x_{n2}	d_n	c_n

d_i : différence des deux valeurs de l'individu *i* ($d_i = x_{i1} - x_{i2}$)

c_i : signe de d_i (« Signe » peut être considéré comme une variable qualitative possédant deux classes : « positif » et « négatif »)

Ce tableau est restructuré en un tableau de test dans lequel les lignes du tableau sont rangées par ordre croissant des valeurs absolues de d_i :

<i>Rang</i>	<i>Valeur absolue de la différence</i>	<i>Signe de d_r</i>
1	d_1	c_1
...	...	...
<i>r</i>	d_r	c_r
...	...	...
<i>n</i>	d_n	c_n

r : rang de d_r (position dans la séquence ordonnée)

d_r : valeur absolue de la différence d_i dans la séquence ordonné (les valeurs d_r sont en ordre croissant)

c_r : signe de d_r avant le passage en valeur absolue (« positif » ou « négatif »)

Exemple (la flèche horizontale rouge indique que les lignes sont maintenant classées suivant cette colonne) :

Individu	1 ^{ère} mesure	2 ^{ème} mesure	Différence	Signe de d_i
1	300	400	-100	négatif
2	400	200	200	positif
3	0	300	-300	négatif
4	50	300	-250	négatif
5	800	400	400	positif
6	250	100	150	positif



Rang	 Valeur absolue de la différence	Signe de d_r
1	100	négatif
2	150	positif
3	200	positif
4	250	négatif
5	300	négatif
6	400	positif

La formule de la VT peut alors être obtenue en réalisant la somme des rangs de chaque individu présent dans la classe « positif » :

$$V_+ = \sum_{j=1}^{n_+} r_j$$

V_+ : VT sur la classe « positif »

j : parmi l'ensemble des n individus ordonnés, $j^{\text{ième}}$ individu dans la classe « positif » de la variable qualitative ($1 \leq j \leq n_+$)

r_j : rang du $j^{\text{ième}}$ individu dans la classe « positif » de la variable qualitative

n_+ : effectif de la classe « positif »

Avec l'exemple : $V_+ = 2 + 3 + 6 = 11$

Calcul de la VT sur l'échantillon avec des valeurs de différence identiques ou nulles

Si des valeurs d_i sont nulles, les lignes du tableau initial sont supprimées avant de réaliser le tableau de test. Dans ce cas, l'effectif de l'échantillon n'est plus n mais $n_{!0}$ (!0 signifiant non nul). Le tableau de test est le suivant :

<i>Rang</i>	<i>Valeur absolue de la différence</i>	<i>Signe de d_r</i>
1	d_1	c_1
...	...	...
r	d_r	c_r
...	...	...
n_{i0}	d_{i0}	c_{i0}

r : rang de d_r (position dans la séquence ordonnée)

n_{i0} : effectif total des d_i non nuls

d_r : valeur absolue de la différence d_i dans la séquence ordonné (les valeurs d_r sont en ordre croissant)

c_r : signe de d_r avant le passage en valeur absolue (« positif » ou « négatif »)

Exemple (la flèche horizontale rouge indique que les lignes sont maintenant classées suivant cette colonne) :

<i>Individu</i>	<i>1^{ère} mesure</i>	<i>2^{ème} mesure</i>	<i>Différence</i>	<i>Signe de d_i</i>
1	100	200	-100	négatif
2	700	500	200	positif
3	0	300	-300	négatif
4	300	300	0	nul
5	600	200	400	positif
6	250	100	150	positif



<i>Rang</i>	 <i>Valeur absolue de la différence</i>	<i>Signe de d_r</i>
1	100	négatif
2	150	positif
3	200	positif
4	300	négatif
5	400	positif

Si des valeurs de d_r sont identiques, le tableau de test est modifié en attribuant à chaque valeur identique un rang moyen par la formule :

$$\text{rang moyen} = \frac{\sum \text{rangs des } d_r \text{ identiques}}{\text{nombre de valeurs de } d_r \text{ identiques}}$$

Exemple (la flèche horizontale rouge indique que les lignes sont maintenant classées suivant cette colonne, les chiffres grisés correspondent aux valeurs de différence identiques) :

Individu	1 ^{ère} mesure	2 ^{ème} mesure	Différence	Signe de d_i
1	100	200	-100	négatif
2	700	500	200	positif
3	0	300	-300	négatif
4	300	300	0	nul
5	500	400	100	positif
6	500	400	100	positif
7	100	400	-300	négatif
8	200	200	0	nul



Rang	→ Valeur absolue de la différence	Signe de d_r
1	100	négatif
2	100	positif
3	100	positif
4	200	positif
5	300	négatif
6	300	négatif



Rang	Valeur absolue de la différence	Signe de d_r
2	100	négatif
2	100	positif
2	100	positif
4	200	positif
5,5	300	négatif
5,5	300	négatif

Les lignes 4 et 8 du tableau initial présentent une différence nulle. Elles sont retirées puis les lignes restantes sont rangées par ordre croissant de la valeur absolue des différences. Ensuite on observe trois fois la valeur 100 et deux fois la valeur 300. Le rang moyen de la valeur 100 dans la séquence ordonnée est donc $(1+2+3)/3=2$, et celui de 300 est $(3+6)/2=5,5$.

Formule de la VT :

$$m_V = \frac{n_{l0}(n_{l0} + 1)}{4}$$

$$s_V^2 = \frac{n_{l0}(n_{l0} + 1)(2n_{l0} + 1)}{24} - \frac{\sum_{i=1}^f (t_i^3 - t_i)}{48}$$

$$Z_{V+} = \frac{V_+ - m_V}{\sqrt{s_V^2}}$$

Z_{V+} : VT sur la classe « positif »

V_+ : VT sur la classe « positif », de même formule que précédemment mais après suppression des valeurs nulles et introduction des rangs moyens

m_V : moyenne de la fluctuation de la VT V_+

s_V^2 : variance de la fluctuation de la VT V_+

n_{i0} : effectif total des d_i non nuls ($n_{i0} = n_+ + n_-$)

f : nombre de valeurs de la différence répétées au moins deux fois

t_i : nombre de répétitions d'une des valeurs de différence répétée

Dans l'exemple ci-dessus, $f=2$ car deux valeurs de la variable quantitative sont répétées : 100 et 300. Pour la valeur 100, $t_i = 3$ car 100 est répété trois fois et pour la valeur 300, $t_i = 2$ car 300 est répété deux fois.

Conclusion du test

Si H_0 ne peut être rejetée (valeur de $p \geq 5\%$) : la différence entre M_{e1} et M_{e2} n'est pas significative. Elle ne semble pas due qu'à la fluctuation d'échantillonnage. Donc, rien ne permet de réfuter que ces médianes sont identiques dans la population visée (avec le risque β de se tromper en affirmant cela, voir paragraphe 5)).

Si H_0 peut être rejetée (valeur de $p \leq 5\%$) : la différence entre M_{e1} et M_{e2} est significative. Les médianes M_{e1} et M_{e2} sont donc différentes dans la population visée (avec le risque α de se tromper en affirmant cela, voir paragraphe 5)).

Dans le cas du test des signes de Wilcoxon, la valeur de p est calculée par combinatoire (voir paragraphe 5)).

5) Obtention de la valeur de p

La VT d'un test fluctue suivant les échantillons et suit donc une distribution de probabilité. Un test statistique prévoit la fluctuation de la VT dans un seul cas : celui fixé par l'hypothèse H_0 . Et c'est la fonction de cette hypothèse : obtenir une distribution de probabilité de la VT parmi une infinité d'entre elles.

Lorsqu'un échantillon est obtenu, une valeur de la VT est obtenue de fait. L'objectif du test est alors de déterminer si cette valeur est probable d'après la distribution de la VT sous H_0 ou non. Pour cela le test fournit une p value. Lorsque la distribution de la VT sous H_0 est une loi connue, la valeur de p est une fonction de répartition de la loi fixée grâce à la valeur de la VT de l'échantillon. Lorsque la loi n'est pas connue, le calcul de p est plus complexe. Il s'agit toujours d'obtenir une fonction de répartition mais celle-ci est issue d'une combinatoire, autrement dit d'un dénombrement de possibilités.

En résumé, l'hypothèse H_0 donne une distribution de la VT, l'échantillon donne une valeur de la VT, et la valeur de p indique, si cette valeur est cohérente avec la distribution (et donc avec l'hypothèse H_0) ou non.

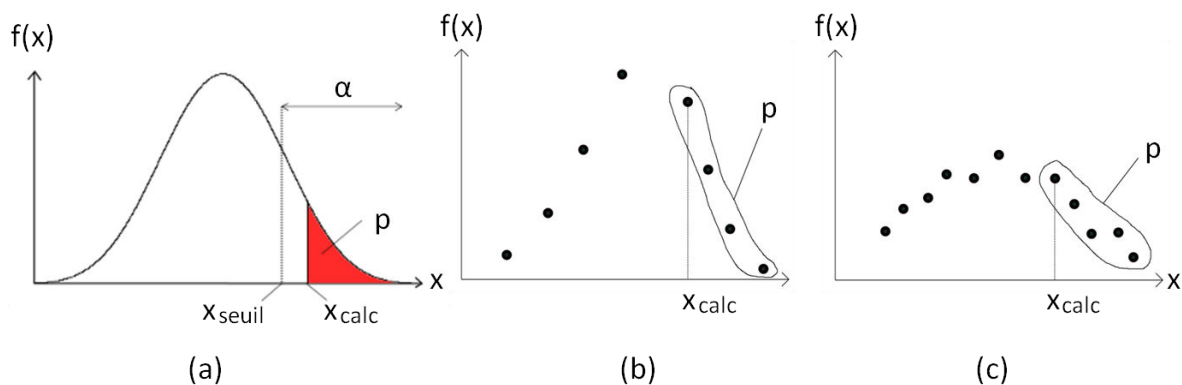


Figure 69 : Illustration de la détermination de la valeur de p . L'hypothèse de test H_0 fixe la distribution de probabilité de la VT et l'échantillon donne une valeur de la VT. La valeur de p est (a) une aire sous la courbe si la distribution de probabilité est une loi de probabilité continue, (b) une somme de probabilités si la distribution est une loi de probabilité discrète, (c) une somme de probabilité si la distribution est issue d'une combinatoire.

Le seuil α ou seuil de rejet de signification de l'hypothèse H_0 est une valeur fixée arbitrairement avant la réalisation de tout test statistique. Elle correspond à un risque assumé de se tromper en rejetant H_0 si celle-ci est réellement vraie. Ce seuil est généralement fixé à 5%.

L'obtention d'une valeur de p supérieure au seuil peut avoir deux origines :

- Une réelle véracité de l'hypothèse H_0 ,
- Un manque de puissance du test soit un risque β de se tromper et de passer à côté d'une réelle fausseté de H_0 .

Une illustration du seuil est proposée dans la Figure 69 dans le cas d'une loi de probabilité continue (a). C'est toujours le même principe dans les autres cas. Dans l'exemple (a) de la Figure 69, le p calculé est inférieur au seuil, le cas où il est supérieur n'est pas représenté mais le principe reste le même.

Le risque β , en revanche, correspond à l'acceptation de l'hypothèse H_0 alors qu'elle aurait dû être rejetée. Ce risque permet de déterminer la puissance d'un test. La puissance d'un test est la probabilité associée au fait de rejeter H_0 alors que celle-ci est fausse, autrement dit d'avoir fait le bon choix en rejetant cette hypothèse. Elle équivaut à $1-\beta$. Le risque β et la puissance de test $1-\beta$ ne sont pas aussi simples à obtenir que α car la fluctuation de la VT sous H_1 n'est pas connue. α est fixé une fois pour toutes lorsqu'un test statistique est réalisé, tandis que β et $1-\beta$ restent des variables qui dépendent du α_{seuil} choisi. Plus la distribution de probabilité de la VT sous H_1 est éloignée de celle sous H_0 , plus β est faible et la puissance de test $1-\beta$ importante.

Bibliographie

[Applegate 1981] R. A. Applegate and A. B. Bonds, Induced movement of receptor alignment toward a new pupillary aperture, *Investigative Ophthalmology & Vision Science*, 21, 869-873 (1981).

[Applegate 1993] R. A. Applegate and V. Lakshminarayanan, Parametric representation of Stiles-Crawford functions: normal variation of peak location and directionality, *Journal of the Optical Society of America*, Vol. 10, No. 7, (1993).

[Bedell 1980] H.E. Bedell, Central and peripheral retinal photoreceptor orientation in amblyopic eyes as assessed by the psychophysical Stiles-Crawford function, *Investigative Ophthalmology & Vision Science*, 19:49-59 (1980).

[Belongie 1998] S. Belongie, C. Carson, H. Greenspan, and J. Malik, Color- and Texture-Based Image Segmentation Using EM and Its Application to Content-Based Image Retrieval, *IEEE International Conference on Computer Vision*, pp. 675-682 (1998).

[Bertero 1998] M. Bertero and P. Boccacci, *Introduction to Inverse Problems in Imaging*, Institute of Physics Publishing Ltd., London (1998).

[Beutel 2000] Jr. Beutel, *Handbook of Medical Imaging: Medical image processing and analysis*, SPIE Press (janv. 2000).

[Bidaut Garnier 2014] M. Bidaut Garnier, M. Flores, G. Debellemanni re, M. Puyraveau, P. Tumahai, M. Meillat, C. Schwartz, M. Montard, B. Delbosc and M. Saleh, Reliability of cone counts using an adaptive optics retinal camera, *Clinical and Experimental Ophthalmology*, 42: 833–840, 2014 doi: 10.1111/ceo.12356 (2014).

[Bierden 2006] P. Bierden and S. Menn, Adaptive Optics Creating a Clearer View of Retina, Boston Micromachines Corporation, *Ophthalmology Times | Cover Story* (2006).

[Bj rck 1996] A. Bj rck, *Numerical Methods for Least Squares Problems*, Society for Industrial and Applied Mathematics, Philadelphia, PA (1996).

[Blanco PhD 2013] L. Blanco, *Imagerie rétinienne in vivo plein champ : vers une restauration tridimensionnelle*. Thèse de Doctorat,  cole Doctorale d'Astronomie et d'Astrophysique d' le de France, Universit  Paris VII, (janv. 2013).

[Blanco 2011] L. Blanco, and L. Mugnier, Marginal blind deconvolution of adaptive optics retinal images, *Optic Express* 23227, Vol. 19, No. 23 (nov. 2011).

[Blank 1975] K. Blank, R. R. Provine, and J. M. Enoch, Shift in the peak of the photopic Stiles-Crawford function with marked accommodation, *Vision Research*, 15, 499-507 (1975).

- [Brooks 2006] T.F. Brooks, W.M. Humphreys, A deconvolution approach for the mapping of acoustic sources (DAMAS) determined from phased microphone arrays, NASA Langley Research Center, Hampton, Virginia 23681-0001, *Journal of Sound and Vibration* 294 856–879 (2006).
- [Burns 1997] S.A. Burns, S. Wu, J.C. He, A.E. Elsner, Variations in photoreceptor directionally across the central retina, *Journal of the Optical Society of America A, Optics Image Science & Vision*, 14(9):2033-40 (1997).
- [Chenegros 2007] G. Chenegros, L. Mugnier, F. Lacombe, M. Glanc, Phase Estimation and Retinal Image Restoration by 3D Phase Diversity, *Optical Society of America A* (2007).
- [Chenegros PhD 2008] G. Chenegros, thèse de doctorat, Restauration d'images de la rétine corrigées par OA, Ecole Doctorale d'Astronomie et d'Astrophysique d'Île de France (nov. 2008).
- [Chung 2008] J. Chung, J. G. Nagy, and D. P. O. Leary, A weighted GCV method for Lanczos hybrid regularization, *Electronic Transactions on Numerical Analysis*, 28:149–167 (2008).
- [Conan 1998] J.-M. Conan, L. M. Mugnier, T. Fusco, V. Michau, and G. Rousset, Myopic deconvolution of adaptive optics images by use of object and point-spread function power spectra, *Applied Optics*, 37, pp. 4614–4622, (jul. 1998).
- [Cooper 2011] R.F. Cooper, A. M. Dubis, A. Pavaskar, J. Rha, A. Dubra, and J. Carroll, Spatial and temporal variation of rod photoreceptor reflectance in the human retina, *Biomedical Optics express* (aug 2011).
- [Coble 1971] J. R. Coble and W A. H. Rushton, Stiles-Crawford effect and the bleaching of cone pigments, *Journal of Physiology, London* 217, 231-242 (1971).
- [Crawford 1937] B.H. Crawford, The luminous efficiency of light entering the eye pupil at different points and its relation to brightness threshold measurement, *Proceedings of the Royal Society, London, Ser. B* 124, 81-96 (1937).
- [Curcio 1990] C.A. Curcio, K.R. Sloan, R.E. Kalina, and A.E. Hendrickson, Human Photoreceptor Topography, Departments of Biological Structure (C.A.C., A.E.H.), Ophthalmology (C.A.C., R.E.K.,A.E.H.), and Computer Science (K.R.S.), University of Washington, Seattle, Washington 98195, *The Journal of comparative neurology* 292:497-523 (1990).
- [Dubra 2011] A. Dubra, Y. Sulai, J.L. Norris, R.F. Cooper, A.M. Dubis, D.R. Williams, and J. Carroll, Noninvasive imaging of the human rod photoreceptor mosaic using a confocal adaptive optics scanning ophthalmoscope, *Biomedical Optics Express*, 2:1864-1876 (2011).
- [Enoch 1973] J. M. Enoch, J.A. VanLoo, and E. Okun, Realignment of photoreceptors disturbed in orientation secondary to retinal detachment, *Investigative Ophthalmology & Vision Science*, 12, 849-853 (1973).

- [Enoch 1963] J.M. Enoch, Optical properties of the retinal receptors, *Journal of the Optical Society of America A*, 53, 71-85 (1963).
- [Enoch 81] J.M. Enoch and D.G. Birch, Inferred positive phototropic activity in human photoreceptors, *Philosophical Transaction Royal Society of London, Ser. B* 291, 323-351 (1981).
- [Flamant 1948] F. Flamant, and W.S. Stiles, The directional and spectral sensitivities of retinal rods to adapting fields of different wavelengths, *Journal of Physiology*, 107(2); 187–202 (1948).
- [Gao 2008] W. Gao, B. Cense, Y. Zhang, R.S. Jonnal, and D.T. Miller, Measuring retinal contributions to the optical Stiles-Crawford effect with optical coherence tomography, *Optics Express*, 16(9):6486-6501 (2008).
- [Ghorbel 2009] I. Ghorbel, F. Rossant, I. Bloch, M. Paques, S. Tick, Segmentation des couches rétinienne dans des images OCT : méthode et évaluation quantitative, *Conférence MajecSTIC'09*, Avignon (2009).
- [Ghorbel 2011] I. Ghorbel, F. Rossant, I. Bloch, M. Paques, Modélisation du parallélisme dans les contours actifs. Application à la segmentation d'images OCT de la rétine et d'images de fond d'œil, *GRETSI* (2011).
- [Ghorbel 2015] I. Ghorbel, F. Rossant, I. Bloch, M. Paques, Parallel Double Snakes. Application to the segmentation of retinal layers in 2D-OCT for pathological subjects, *Pattern Recognition* (jun. 2015).
- [Ghorbel PhD 2012] I. Ghorbel, Segmentation et quantification des couches rétinienne dans des images de tomographie de cohérence optique, dans le cas de sujets sains et pathologiques, Paris, ENST, école doctorale informatique, télécommunication et électronique (2012).
- [Godara 2010] P. Godara, A.M. Dubis, A. Roorda, J.L. Duncan, and J.Carroll, Adaptive optics retinal imaging: emerging clinical applications, *Optom Vis Sci.* (dec. 2010).
- [Gonzalez 1977] R.C. Gonzalez and P. Wintz, *Digital image processing*, chapter 5, Addison-Wesley Publishing Company (1977).
- [Gorrand 1995] J.M. Gorrand, and F.C. Delori, A reflectometric technique for assessing photoreceptor alignment, *Vision Research* 35(7):999-1010 (1995).
- [Gratadour 2005] D. Gratadour, D. Rouan, L. Mugnier, T. Fusco, Y. Clénet, E. Gendron, and F. Lacombe, Near-infrared adaptive optics dissection of the core of NGC 1068 with NAOS-CONICA EDP Sciences, (sept. 2005).
- [Gratadour 2005 bis] D. Gratadour, L. Mugnier, and D. Rouan, Sub-pixel image registration with a maximum likelihood estimator, application to the first adaptive optics observations of arp 220 in the I' band, *Astronomy and Astrophysics*, 443, 357–365 (2005).
- [Grieve 2008] K. Grieve, A. Roorda, Intrinsic signals from human cone photoreceptors, *Investigative Ophthalmology & Vision Science*, 49(2):713-719 (2008).

- [Hansen 2006] P.C. Hansen, J.G. Nagy, and D.P.O. Leary, Deblurring images matrices, spectra and filtering, Society for Industrial and Applied Mathematics, Philadelphia, PA (2006).
- [Harris 1988] C. Harris and M. Stephens, A Combined Corner and Edge Detector, Proceedings of the Fourth Alvey Vision Conference, pp. 147-151 (1988).
- [Huang 2011] G. Huang, Z. Zhong, W. Zou, and S.A. Burns, Lucky averaging: quality improvement of adaptive optics scanning laser ophthalmoscope images, Optics Letters, 36(19):3786–3788, (oct. 2011).
- [Jacob 2015] J. Jacob, M. Paques, V. Krivosic, B. Dupas, A. Couturier, C. Kulcsar, P. Massin, and A. Gaudric, Meaning of visualizing retinal cone mosaic in adaptive optics images, American Journal of Ophthalmology, 159:118-23 (2015).
- [Jonnal 2007] R.S. Jonnal, J. Rha, Y. Zhang, B. Cense, W. Gao, D.T. Miller, In vivo functional imaging of human cone photoreceptors, Optics Express 15(24):16141-16160 (2007).
- [Jonnal 2010] R.S. Jonnal, J.R. Besecker, J.C. Derby, O.P. Kocaoglu, B. Cense, W. Gao, Q. Wang, and D.T. Miller, Imaging outer segment renewal in living human cone photoreceptors, Optics Express 18(5), 5257–5270 (2010).
- [Jonnal 2007] R.S. Jonnal, J. Rha, Y. Zhang, B. Cense, W. Gao, and D.T. Miller, In vivo functional imaging of human cone photoreceptors, Optics Express 15(24), 16141–16160 (2007).
- [Jonnal 2014] R.S. Jonnal, O.P. Kocaoglu, R.J. Zawadzki, S.H. Lee, J.S. Werner, and D.T. Miller, The cellular origins of the outer retinal bands in optical coherence tomography images. Investigative Ophthalmology & Vision Science, 55:7904-18 (2014).
- [Jungtae 2006] J. Rha, R.S. Jonnal, Karen E. Thorn, Qu. Junle, Y. Zhang, and D.T. Miller, Adaptive optics flood-illumination camera for high speed retinal imaging Indiana University School of Optometry, 800 East Atwater Ave, Bloomington, IN 47405 USA (2006).
- [Kaufman 1993] L. Kaufman, Maximum likelihood least squares and penalized least squares for PET, IEEE Transactions on Medical Imaging, 12, pp. 200-214, (1993).
- [Kinnear 1979] P. Kinnear, M. Marre, J. Pokorny, V.C. Smith, and G. Verriest, Specialized methods of evaluating color vision defects, in Congenital and Acquired Color Vision Defects, eds., pp. 137-181, Grune & Stratton, New York (1979).
- [Kuan 1985] D.T. Kuan, A.A. Sawchuk, V. Strand, and P. Chavel, Adaptive noise smoothing filter for images with signal dependent noise, IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 7: 165–77, (1985).
- [Kulcsar 2013] C. Kulcsar, G.L. Besnerais, E. Ödlund, X. Lévecq, Robust processing of images sequences produced by an adaptive optics retinal camera, Imaging and Applied Optics, Optical Society of America, paper OW3A.3 (2013).
- [Landweber 1951] L. Landweber, An iteration formula for Fredholm integral equations of the first kind, American Journal of Mathematics 73, 615–624 (1951).

- [Lane 1992] R.G. Lane, Blind déconvolution of speckle images, *Journal of the Optical Society of America*, A 9, 1508–1514 (1992).
- [Laties 1968] A.M. Laties, P. Leibman, C. Campbell, Photoreceptor orientation in the primate eye” *Nature* 218(5137):172-173 (1968).
- [Laties 1969] A.M. Laties, Histological techniques for study of photoreceptor orientation, *Tissue and Cell* 1, 63-81 (1969).
- [Liang 1997] J. Liang, D.R. Williams, and D.T. Miller, Supernormal vision and high-resolution retinal imaging through adaptive optics. *Journal of the Optical Society of America A*, 14(11):2884 (nov. 1997).
- [Li 2007] K.Y. Li and A. Roorda, Automated identification of cone photoreceptors in adaptive optics retinal images, *Journal of the Optical Society of America A*. 24(5), 1358–1363 (2007).
- [Li 2010] K.Y. Li, P. Tiruveedhula and A. Roorda, Intersubject variability of foveal cone photoreceptor density in relation to eye length, *Investigative Ophthalmology & Vision Science*, 51: 6858– 6867 (2010).
- [Lombardo 2012] M. Lombardo, G. Lombardo, P. Ducoli, and S. Serrao, Adaptive optics photoreceptor imaging, *Ophthalmology*, 119(7):1498-1498 (2012).
- [Lombardo 2013] M. Lombardo, S. Serrao, P. Ducoli and G. Lombardo, Eccentricity dependent changes of density, spacing and packing arrangement of parafoveal cones, *Ophthalmic & Physiological Optics* 33 (2013) 516–52 (2013).
- [Lindeberg 1993] T. Lindeberg, *Scale-Space Theory in Computer Vision*, Boston/London/Dordrecht: Kluwer Academic Publishers (1993).
- [Lowe 2004] D.G. Lowe, Distinctive Image Features from Scale-Invariant Keypoints, *International Journal of Computer Vision*, vol. 60, no. 2, pp. 91-110, (nov. 2004).
- [Loquin 2011] K. Loquin, I. Bloch, K. Nakashima, F. Rossant and M. Paques, Photoreceptor detection in in-vivo adaptive optics images of the retina: towards a simple interactive tool for the physicians, In: *IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro, ISBI 2011*, pp. 191-194. Chicago, Illinois, U.S.A (2011).
- [Loquin 2012] K. Loquin, I. Bloch, K. Nakashima, F. Rossant, P.-Y. Boelle, and M. Paques. Automatic Photoreceptor Detection in In-Vivo Adaptive Optics Retinal Images: Statistical Validation, A. Campilho and M. Kamel (Eds.): *ICIAR 2012, Part II, LNCS 7325*, pp. 408–415 (2012).
- [Lujan 2011] B.J. Lujan, A. Roorda, R.W. Knighton, J. Carroll, Revealing Henle's fiber layer using spectral domain optical coherence tomography, *Investigative Ophthalmology & Vision Science*, 52:1486-92 (2011).

[MacCallum 1990] B.C. MacCallum, Blind déconvolution by simulated annealing, *Optics Communication*, 75, 101–105 (1990).

[Mansuco 2009] K. Mancuso, W.W. Hauswirth, Q. Li, T.B. Connor, J.A. Kuchenbecker, M.C. Mauck, J. Neitz, and M. Neitz, Gene therapy for red-green colour blindness in adult primates, *Nature*, 461(7265):784–787 (2009).

[Merino 2011] M.D. Duncan, P. Tiruveedhula, and A. Roorda, Observation of cone and rod photoreceptors in normal subjects and patients using a new generation adaptive optics scanning laser ophthalmoscope, *Biomedical Optics Express*, 2:2189–2201 (2011).

[Meitav 2011] N. Meitav and E.N. Ribak, Improving retinal image resolution with iterative weighted shift-and-add. *Journal of Optical Society of America A*, 28(7):1395–1402 (jul 2011).

[Mikolajczyk 2004] K. Mikolajczyk and C. Schmid, Scale and Affine Invariant Interest Point Detectors, *International Journal of Computer Vision*, vol. 60, no. 1, pp. 63–86 (2004).

[Miller 1996] D.T. Miller, D.R. Williams, G.M. Morris, J. Liang, Images of cone photoreceptors in the living human eye, *Vision Research*, 36:1067–79 (1996).

[Millot 2014] G. Millot, Comprendre et réaliser les tests statistiques à l'aide de R 3ème édition, Edition de Boeck (fév. 2014).

[Miloudi 2015] C. Miloudi, F. Rossant, I. Bloch, C. Chaumette, A. Leseigneur, J-A. Sahel, S. Meimon, S. Mrejen and M. Paques. The negative cone mosaic: a new manifestation of the optical Stiles-Crawford effect. Accepted at IOVS, (sept. 2015).

[Nagy 2000] J.G. Nagy and Z. Strakoš, Enforcing nonnegativity in image reconstruction algorithms. In D.C. Wilson et al., editor, *Mathematical Modeling, Estimation and Imaging*, volume 4121, pages 182–190 (2000).

[Odobez 1995] J.-M. Odobez and P. Bouthemy. Robust multiresolution estimation of parametric motion models. *Journal of Visual Communication and Image Representation*, 6(4):348–365 (1995).

[Ooto 2010] S. Ooto, M. Hangai, A. Sakamoto, A. Tsujikawa, K. Yamashiro, Y. Ojima, Y. Yamada, H. Mukai, S. Oshima, T. Inoue, and N. Yoshimura, High-resolution imaging of resolved central serous chorioretinopathy using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Ophthalmology*, 117:1800–1809 (2010).

[Osterberg 1935] G.A Osterberg, Topography of the layer of rods and cones in the human retina. *Acta Ophthalmologica* 13 (Supplement 6) 1–97 (1935).

[Otani 2011] T. Otani, Y. Yamaguchi, and S. Kishi, Improved visualization of Henle fiber layer by changing the measurement beam angle on optical coherence tomography, *Retina* 31:497–501 (2011).

[Pallicaris 2003] A. Pallikaris, D.R. Williams, and H. Hofer, The reflectance of single cones in the living human eye, *Investigative Ophthalmology & Vision Science*, 44:4580–92 (2003).

[Paques 2015] M. Paques, C. Miloudi, A. Leseigneur, C. Chaumette, E. Koch, High resolution imaging of Gunn's dots, *Retina*, 35:120-124 (2015).

[Putnam 2005] N.M. Putnam, H.J. Hofer, N. Doble, L. Chen, J. Carroll, D.R. Williams, The locus of fixation and the foveal cone mosaic, *Journal of Vision*, 5:632–9 (2005).

[Ravi 2007] R.S. Jonnal, J. Rha, Y. Zhang, B. Cense, W. Gao, and D.T. Miller, In vivo functional imaging of human cone photoreceptors School of Optometry, Indiana University, Bloomington, Indiana 47405 (2007).

[Roorda 1999] A. Roorda and D.R. Williams, The arrangement of the three cone classes in the living human eye, *Nature*, 397:520{522 (1999).

[Roorda 2002] A. Roorda, and D.R. Williams, Optical fiber properties of individual human cones, *Journal of Vision*, 2:404–12 (2002).

[Rha 2006] J. Rha, R.S. Jonnal, K.E. Thorn, J. Qu, Y. Zhang, and D.T. Miller, Adaptive optics flood-illumination camera for high speed retinal imaging, *Optics Express*,14:4552–69 (2006).

[Roorda 1992] B.J. Lujan, A. Roorda, R.W. Knighton, and J. Carroll, Revealing Henle's fiber layer using spectral domain optical coherence tomography, *Investigative Ophthalmology & Vision Science*, 52:1486-92, (2011).

[Shan 2005] Y. Shan, H.S. Sawhney, and R. Kumar, Unsupervised Learning of Discriminative Edge Measures for Vehicle Matching between Non-Overlapping Cameras, *Proc. IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition* (2005).

[Stiles Crawford 1933] W.S. Stiles, and B.H. Crawford, The luminous efficiency of rays entering the eye pupil at different points, *Proceedings of the Royal Society of London B.*; 112:428–450 (1933).

[Stiles 1937] W.S. Stiles, The luminous efficiency of monochromatic rays entering the eye pupil at different points and a new color effect, *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 137, 90–118 (1937).

[Smallman 2001] H.S. Smallman, D.I.A. MacLeod, and P. Doyle, Realignment of cones after cataract removal, *Nature*, 412:604–605 (2001).

[Song 2011] H. Song, T.Y.P. Chui, Z. Zhong, A.E. Elsner and S.A. Burns, Variation of cone photoreceptor packing density with retinal eccentricity and age. *Investigative Ophthalmology and Vision Science*, 52:7376–7384 (2011).

[Spaide 2011] R.F. Spaide, and A. Curcio, Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography: literature review and model. *Retina*, 31:1609-19 (2011).

[Staurengi 2014] G. Staurengi, S. Sadda, U. Chakravarthy, and R.F. Spaide, International Nomenclature for Optical Coherence Tomography Panel, Proposed lexicon for anatomic

landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography: the IN•OCT consensus. *Ophthalmology*, 121:1572-1578 (2014).

[Stewart 2003] C. Stewart, C.-L. Tsai, and B. Roysam, The Dual-Bootstrap Iterative Closest Point Algorithm with Application to Retinal Image Registration, *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 22, no. 11, pp. 1379-1394 (2003).

[Stewart 2007] G. Yang, C.V. Stewart, M. Sofka, and C.-L. Tsai, Registration of Challenging Image Pairs: Initialization, Estimation, and Decision, *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 29, no. 11 (nov. 2007).

[Thiebaut 2002] E. Thiebaut, Optimization issues in blind deconvolution algorithms, in *Astronomical Data Analysis II, Proceedings of the Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers*, vol. 4847, pp. 174–183 (2002).

[VanLoo 1975] J.A. VanLoo and J.M. Enoch, The scotopic Stiles-Crawford effect, *Vision Research* 15, 1005-1009 (1975).

[Van Norren 1981] D. Van Norren and J. Van der Kraats, A continuously recording retinal densitometer, *Vision Research*. 21, 897-905 (1981).

[Viard 2011] C. Viard, K. Nakashima, B. Lamory, M. Paques, X. Levecq, and N. Chateau, Imaging microscopic structures in pathological retinas using a flood-illumination adaptive optics retinal camera, *Proceedings of SPIE 7885, Ophthalmic Technologies XXI*, 788509, doi:10.1117/12.874766 (February 11, 2011).

[Vincent 1991] L. Vincent and P. Soille, Watersheds in digital spaces: an efficient algorithm based on immersion simulations, *IEEE Transaction on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 13, no. 6, pp. 583–598 (1991).

[Vogel 2006] C.R. Vogel, D.W. Arathorn, A. Roorda, and A. Parker, Retinal motion estimation in adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy, *Optics express*, 14(2):487–497 (2006).

[Vohnsen 2005] B. Vohnsen, I. Iglesias, and P. Artal, Guided light and diffraction model of human eye photoreceptors, *Journal of the Optical Society of America A*, 22, 2318–2328 (2005).

[Westheimer 1967] G. Westheimer, Dependence of the magnitude of the Stiles Crawford effect on retinal location, *Journal of Physiology London* 192, 309-315 (1967).

[Westheimer 2008] G. Westheimer, Directional sensitivity of the retina: 75 years of Stiles–Crawford effect Division of Neurobiology, University of California, 144 Life Sciences Addition, Berkeley, CA 94720-3200, USA (2008).

[Wendykier 2008] P. Wendykier and J.G. Nagy, Large-Scale Image Deblurring in Java, M. Bubak et al. (Eds.): ICCS 2008, Part I, LNCS 5101, pp. 721–730 (2008).

[Wendykier PhD 2009] P. Wendykier, High Performance Java Software for Image Processing Faculty of the James T. Laney School of Graduate Studies of Emory University (2009).

[Xue 2007] B. Xue, S.S. Choi, N. Doble and J.S. Werner, Photoreceptor counting and montaging of en-face retinal images from an adaptive optics fundus camera, *Journal of Optical Society of America A*. 24(5), 1364–1372 (2007).

[Yang 2007] G. Yang, C.V. Stewart, M. Sofka, C.-L. Tsai, Registration of Challenging Image Pairs: Initialization, Estimation, and Decision, *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol.29, no.11, pp.1973, 1989, doi: 10.1109/TPAMI.2007.1116 (nov. 2007).

[Zhang 2006] Y. Zhang, A. Roorda, Evaluating the lateral resolution of the adaptive optics scanning laser ophthalmoscope, *Journal of Biomedical Optics* 11 1, 014002 (2006).

[Zitova 2003] B. Zitova, J. Flusser, Image registration methods: a survey. *Image and Vision Computing*, 21: 977–1000 (2003).

[Shapiro & Wilk 1965] S. S. Shapiro; M. B. Wilk, An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples), *Biometrika*, Vol. 52, No. ¾, pp. 591-611 (dec. 1965).

Table des illustrations

<i>Figure 1 : Anatomie de l'œil.</i>	11
<i>Figure 2 : Coupe histologique de la rétine. La couche des photorécepteurs (9) permet de convertir la lumière en un signal nerveux compréhensible pour le cerveau. Source : http://accres.enslyon.fr/accres/ressources/neurosciences/vision/comprendre/cas_anomalies_vision/images_ressources/Retina/view.</i>	12
<i>Figure 3 : Schéma simplifié des photorécepteurs. Source : http://www.ac-grenoble.fr/disciplines/svt/file/ancien_site/log/1_l/vision/1LI_chap.htm.</i>	14
<i>Figure 4 : Variation de la densité des photorécepteurs au niveau de la rétine [Osterberg 1935].</i>	15
<i>Figure 5 : Schéma de coupe de la macula où la fovéa peut être identifiée par une dépression du tissu rétinien. Source : http://www.dematice.org/ressources/DCEM3/ophtalmologie.</i>	16
<i>Figure 6 : Photographies du fond d'œil chez un œil normal (a) et dans le cas d'une dégénérescence maculaire liée à l'âge (b).</i>	17
<i>Figure 7 : Photographie du fond d'œil obtenue par SLO.</i>	18
<i>Figure 8 : Illustration d'une image OCT dans le cas d'un sujet sain.</i>	18
<i>Figure 9 : Image OCT de la rétine, acquise avec l'OCT 3D 1000, Topcon (http://www.topcon-medical.eu), et définition des couches rétinienne. Source [Ghorbel 2009].</i>	19
<i>Figure 10 : Exemple d'image prise par optique adaptative en illumination plein champ (RTX1 d'Imagine Eyes, technologie FIAO : Flood Illumination Adaptive Optics en anglais) dans le cas d'un sujet sain. Image 4 degrés x 4 degrés (1200 x 1200 microns). Zoom 150 x 150 microns.</i>	19
<i>Figure 11 : Principe général de l'optique adaptative [Bierden 2006].</i>	20
<i>Figure 12 : (a) Exemple d'image brute ; (b) exemple d'image moyennée finale fournie par le RTX1 (technologie FIAO).</i>	21
<i>Figure 13 : Illustration de la variabilité de l'imagerie en FIAO. Images acquises avec le RTX1, taille 400 x 400 μm^2. Les points verts correspondent aux positions des directions de visée par rapport à l'œil étudié pour chaque image.</i>	22
<i>Figure 14 : Illustration de l'effet d'une variation d'angle d'incidence sur l'imagerie rétinienne par OCT. Noter la visibilité alternée (droite/gauche) de la couche des fibres de Henle.</i>	23
<i>Figure 15 : Efficacité lumineuse relative pour des faisceaux étroits, comme une fonction de la position du faisceau incident par rapport à la pupille. Les données pour deux séries de mesures à trois mois d'intervalle dans l'œil gauche de S. W. Stiles [Stiles-Crawford 1933]. ...</i>	24
<i>Figure 16 : Illustration de l'effet d'une variation d'angle d'incidence.</i>	26
<i>Figure 17 : Illustration du SCE en périphérie de la rétine (7,6degrés Nasal, 5,4degrés Temporal), cas d'un sujet sain, acquisition en translation. Les images représentées sont des images brutes recalées. Chaque disque blanc modélise la pupille ; le point noir représente le point d'entrée du faisceau incident par rapport au centre de la pupille. Absence de cônes visibles dans les images (a) et (b) puis apparition progressive de cônes dans les images (c), (d), (e), (f) et (g), puis disparition des cônes à l'image (h).</i>	27
<i>Figure 18 : Exemples de déconvolution sur image brute et sur image moyennée avec (a) image moyennée, (b) résultat de la déconvolution myope de (a), (c) image brute, (d) résultat de la déconvolution myope de (c).</i>	31
<i>Figure 19 : Exemple de déconvolution myope réalisée sur une image brute de taille 4 degrés x 4 degrés (1200 x 1200 microns). Zoom 174 x 174 microns.</i>	32

Figure 20 : Affichage des densités spectrales de puissance des données suivantes : Si (courbe noire), $TF(h)^2So$ (courbe rose), Sn (courbe jaune), $TF(h)^2So + Sn$ (courbe bleue). Lorsque la courbe bleue est proche de la courbe noire, cela indique que les estimations de Si, So et Sn se sont déroulées correctement.	33
Figure 21 : Exemples de déconvolutions WPL avec une PSF gaussienne d'écart type 13 (b) et 25 (c), réalisées sur l'image brute (a) qui est la même que dans la Figure 19.	35
Figure 22 : Exemple de recalage réalisé avec le logiciel i2k retina [http://www.dualalign.com/retinal/image-registration-montage-software-overview.php]. Les 2 images 4 degrés x 4 degrés ont été prises avec des angles de vue différents. Les intersections affichées correspondent aux zones de recouvrement communes entre les deux images recalées.	39
Figure 23 : Illustration de la procédure d'égalisation de luminance entre deux images, nommées I et J dans cet exemple.	40
Figure 24 : Interface du logiciel de détection des cônes sous imageJ [Loquin 2011].	42
Figure 25 : Exemple de résultats de détection fourni par le plugin, avec (a) affichage des positions des cônes détectés dans l'image, (b) affichage de la carte des densités, (c) affichage du résultat de la segmentation de l'image, et enfin (d) tableau des données morphométriques.	42
Figure 26 : Interface du logiciel propriétaire Imagine Eyes de détection des cônes sur les images d'optique adaptative [Bidaut Garnier 2014].	43
Figure 27 : Exemples de détections réalisées avec la méthode de [Loquin 2011] et le logiciel de détection d'ImagineEyes. Il persiste quelques différences mais que la majorité des cônes présents dans l'image (pointés en jaunes) sont détectés par les deux méthodes. Taille des images 300 x 300 μm^2 . Paramètres de la détection [Loquin 2011] : écart type de la FEP fixée à 5 et indice de tolérance à 10.	44
Figure 28 : Comparaison de deux méthodes de détection automatique des cônes sur les images FIAO : logiciel Imagine Eyes (courbes bleues) et méthode de [Loquin 2011] (courbes rouges).	45
Figure 29 : Exemple de comptages manuels et automatiques sur une image moyennée (première image à gauche) et ses deux versions déconvoluées par les méthodes myope ou gaussienne.	49
Figure 30 : Classement des images de la base de données en fonction de la qualité des images estimée par la reproductibilité intra-expert pour les deux types de déconvolution gaussienne [Wendykier 2008] ou myope [Blanco 2011].	50
Figure 31 : Minimum de fausses détections pour une sensibilité de 100% dans le cas d'une déconvolution myope (courbe rouge) et dans le cas d'une déconvolution gaussienne (courbe bleue).	52
Figure 32 : Maximum de sensibilité de la détection automatique pour un taux de faux positifs nul, dans le cas des images ayant subi une déconvolution myope (courbe rouge) ou gaussienne (courbe bleue).	53
Figure 33 : Maximum de différence entre sensibilité et taux de faux positifs dans le cas des images ayant subi une déconvolution myope (courbe rouge) et gaussienne (courbe bleue). ..	55
Figure 34 : Sensibilité qui maximise la différence entre sensibilité et taux de faux positifs dans le cas des images avec déconvolution myope (courbe rouge) et gaussienne (courbe bleue)...	56
Figure 35 : Taux de faux positifs qui maximise la différence entre sensibilité et taux de faux positifs dans le cas des images avec déconvolution myope (courbe rouge) et gaussienne (courbe bleue).	57
Figure 36 : Illustration de l'influence du paramétrage de la déconvolution gaussienne [Wendykier 2008] sur la détection automatique des cônes [Loquin 2011] dans le cas des images moyennées. Les tests ont été réalisés sur 5 images de la base de données, provenant de	

5 sujets différents. De gauche à droite sont représentés la sensibilité de la détection, le taux de faux positifs et enfin l'écart entre ces deux valeurs en fonction de l'écart type « sigma » de la FEP pour différents indices de tolérance 5, 10, 15 et 20 (de haut en bas).	59
Figure 37 : Illustration de l'influence du paramétrage et des différentes méthodes de déconvolution sur la détection automatique des cônes avec la méthode de [Loquin 2011], exemple pour deux imagerie (im01 et im05). Les figures de gauche représentent la sensibilité de la détection des cônes en fonction de l'indice de tolérance tandis que les figures de droite représentent le taux de faux positifs en fonction de ce même paramètre.	60
Figure 38 : Comparaison des courbes ROC pour les imagerie im01 et im05, en fonction des différentes méthodes de déconvolution. Le paramètre qui varie est l'indice de tolérance.	61
Figure 39 : Déconvolutions gaussiennes avec différents écarts types et déconvolution myope réalisées sur une image brute.....	62
Figure 40 : Illustration des deux types de déconvolution et détection automatique [Loquin 2011] associée dans le cas d'une image brute. (a) image brute de référence ; (b) déconvolution myope ; (c) déconvolution gaussienne d'écart type 5. Les détections automatiques illustrées pour chaque type de déconvolution correspondent au même paramétrage (indice de tolérance 10). Imagerie 96x96 μm^2 ; zoom 28x28 μm^2	63
Figure 41 : Illustration de l'influence des deux types de déconvolution sur la détection automatique [Loquin 2011] sur une image brute contenant un vaisseau. (a) image brute de référence ; (b) déconvolution myope; (c) déconvolution gaussienne. Les détections automatiques illustrées pour chaque type de déconvolution correspondent au même paramétrage (indice de tolérance 10). Imagerie 96x96 μm^2	64
Figure 42 : Comparaison de la reproductibilité intra-utilisateur pour deux types de déconvolution myope ou gaussienne, dans le cas du comptage sur image brute.	65
Figure 43 : Comparaison des vérités terrains pour les deux types de déconvolution : gaussienne (courbe bleue) ou myope (courbe rouge).	66
Figure 44 : Comparaison de la différence maximale entre sensibilité et taux de faux positifs pour les deux types de déconvolution gaussienne (courbe bleue) ou myope (courbe rouge). .	67
Figure 45 : Sensibilité correspondant à la différence maximale entre sensibilité et taux de faux positifs pour les deux types de déconvolution gaussienne (courbe bleue) ou myope (courbe rouge).	68
Figure 46 : Taux de faux positifs correspondant à la différence maximale entre sensibilité et taux de faux positifs pour les deux types de déconvolution gaussienne (courbe bleue) ou myope (courbe rouge).....	69
Figure 47 : Illustration de la variabilité temporelle de la réflectance des cônes sur un intervalle de 24 heures. Les images (a) et (b) ont été acquises avec le même angle d'incidence (« en face ») à 24 heures d'intervalle. Des exemples de cônes présentant des différences de réflectance sont pointés par des flèches. Images moyennées de taille 254x254 μm^2	71
Figure 48 : Illustration de la variabilité temporelle des cônes à court terme (moins d'une minute); les images ont été prises dans l'ordre (a), (b) puis (c) à moins d'une minute d'intervalle. Les flèches permettent de distinguer quelques cônes d'intérêt dont la réflectance varie. Les niveaux de gris des cônes pointés dans les images sont représentés sur le graphique (d). Certains cônes ont un niveau de gris fortement atténué dans certaines images (cônes 1 et 2 fortement atténués dans (c) par exemple). Images moyennées de taille 170x170 μm^2	72
Figure 49 : Illustration de la variabilité temporelle des photorécepteurs à 9,5 Hz. Les flèches permettent de pointer quelques cônes présentant des variations de réflectance. Sur le graphique (en bas à droite) est présenté le niveau de gris de ces cônes. Images brutes déconvoluées de taille 97x97 μm^2	73

Figure 50 : Exemple de couple d'images brutes déconvoluées avec la méthode de [Blanco 2010] (a) et (b) avec les détections automatiques réalisées avec la méthode de [Loquin 2011].	74
Figure 51 : Résultats d'appariements en fonction de différents seuils allant de 1 à 4. Les images affichées intègrent les positions des cônes détectés dans les 2 images de la Figure 50 avec les codes de couleur suivants : les croix vertes sont des cônes appariés avec leurs plus proches voisins. Les cônes bleus et rouges correspondent à des cônes non appariés. Les zones agrandies pour les seuils 1 et 2 sont les mêmes. Idem entre les seuils 3 et 4.	74
Figure 52 : Evolution du pourcentage de cônes appariés en fonction du seuil choisi pour l'appariement des cônes.	75
Figure 53 : Illustration du « scintillement » dans le cas des points de Gunn. Images brutes déconvoluées avec la méthode de [Blanco 2011], de taille $325 \times 329 \mu\text{m}^2$.	76
Figure 54 : Illustration du scintillement des cônes dans la fovéa. Images brutes de taille $120 \times 120 \mu\text{m}^2$.	77
Figure 55 : Exemple de fusion de deux images. (a) et (b) sont les images à fusionner sur lesquelles les cônes appariés sont représentés en vert. Les croix bleues et rouges représentent les cônes non appariés. Dans l'image (c) tous les cônes des images (a) et (b) sont représentés. Les carrés violets permettent de distinguer des cas où un cône présente 2 candidats potentiels pour l'appariement. L'image (d) présente la carte finale après l'appariement et avant la mise à jour de la carte (étape 2). L'image (e) présente la carte finale pour la fusion des deux images (a) et (b).	80
Figure 56 : Chaîne de traitement permettant d'aboutir à une cartographie intégrant la variabilité temporelle de la réflectance des cônes à 9,5 Hz. n images brutes sont déconvoluées avec la méthode de [Blanco 2011] avant d'être recalées avec le logiciel i2k [Yang 2007]. Ensuite elles sont analysées avec une détection automatique des cônes avec la méthode de [Loquin 2011] avant d'être enfin fusionnées pour obtenir une cartographie.	81
Figure 57 : Illustration de la mesure de densité sur les imagerie en fonction de l'excentricité. Approximation utilisée pour une image non localisée sur l'axe temporal/nasal ou supérieur/inférieur (img2) pour mesurer la densité théorique : la densité théorique de l'imagerie img2 est la moyenne des densités théoriques des imagerie img1 (axe supérieur) et img3 (axe temporal).	82
Figure 58 : Résultats de fusion d'images brutes déconvoluées sur 5 sujets sains. Les figures de gauche représentent pour chaque patient le nombre de cônes supplémentaires à chaque ajout d'une image brute. A droite est représenté pour chaque patient le nombre total de cônes dans la carte en fonction du nombre d'images fusionnées. Les cercles de couleur représentent le nombre de cônes détectés dans l'image moyennée correspondante. Chaque couleur correspond à un jeu d'images brutes pour le sujet concerné.	83
Figure 59 : Illustration des résultats de fusion d'images brutes en fonction de l'ordre avec lequel elles sont ajoutées à notre algorithme dans le cas du sujet 4.	84
Figure 60 : Résultats de fusion d'images brutes déconvoluées sur 5 sujets sains. Les figures de gauche représentent pour chaque sujet le nombre de cônes de la carte de fusion (courbes rouges) et de l'image moyennée (courbes bleues). A droite sont représentées, pour chaque sujet, les densités de cônes dans la carte de fusion (courbes rouges) et dans l'image moyennée (courbes bleues). Les densités théoriques conformément aux données histologiques [Curcio 1990] sont représentées par les courbes vertes.	87
Figure 61 : Procédure d'acquisition de cinq images d'une même zone avec différentes pupilles d'entrée. De gauche à droite les positions des pupilles d'entrée correspondant aux angles « en face », « 3h », « 6h », « 9h », et « 12h ».	89
Figure 62 : Illustration du modèle d'acquisition permettant de faire une estimation de l'angle d'incidence de la lumière.	90

<i>Figure 63 : Illustration des différentes positions du faisceau incident utilisées pour le protocole d'acquisition.</i>	91
<i>Figure 64 : Illustration de la mesure de la parallaxe des ombres des vaisseaux en OA lorsque plusieurs acquisitions à différents angles d'incidences sont effectuées. En bas de chaque image est représentée la pupille d'entrée correspondante. Le décalage x de l'ombre du vaisseau entre les deux images est représenté en rouge. Les segments verts sont positionnés manuellement pour délimiter les bords du vaisseau et faciliter la comparaison entre les deux images.</i>	92
<i>Figure 65 : Illustration de la mesure de l'amplitude angulaire des cônes. x est le décalage du vaisseau mesuré dans la Figure 64.</i>	93
<i>Figure 66 : Illustration de la procédure de recherche des appariements dans un groupe de trois images. LJ, LI, et LK sont les listes des positions des cônes respectivement dans les images J, I et K. On note Q_{J_1} l'ensemble des cônes de l'image J non appariés à l'étape 1.</i>	105
<i>Figure 67 : Illustration de la procédure de fusion d'images d'angles différents dans le cas d'un sujet sain. Images de taille $116 \times 116 \mu\text{m}^2$.</i>	106
<i>Figure 68 : Illustration de la fusion de trois incidences dans le cas d'un œil présentant une lésion maculaire. Images de taille $409 \times 409 \mu\text{m}^2$.</i>	108
<i>Figure 69 : Illustration de la détermination de la valeur de p. L'hypothèse de test H_0 fixe la distribution de probabilité de la VT et l'échantillon donne une valeur de la VT. La valeur de p est (a) une aire sous la courbe si la distribution de probabilité est une loi de probabilité continue, (b) une somme de probabilités si la distribution est une loi de probabilité discrète, (c) une somme de probabilité si la distribution est issue d'une combinatoire.</i>	128

Listes des publications et présentations

C. Miloudi, F. Rossant, I. Bloch, C. Chaumette, A. Leseigneur, J-A. Sahel, S. Meimon, S. Mrejen and M. Paques. The negative cone mosaic: a new manifestation of the optical Stiles-Crawford effect. Submitted at IOVS, accepted (28 sept. 2015).

M. Paques, C. Miloudi, A. Leseigneur, C. Chaumette, E. Koch, High résolution Imaging of Gunn's dots. *Retina*; 35:120-124 (2015).

C. Miloudi, L. Mugnier; J-A. Sahel; I. Bloch; F. Rossant and M. Paques, Adaptive optics photoreceptor mapping: Integration of photoreceptor scintillation by image fusion, ARVO conference, poster board number 4940 - B0068 (2015).

M. Paques, C. Miloudi, L. Mugnier, J-A. Sahel, I. Bloch, F. Rossant, S. Mrejen, The optical Stiles-Crawford effect strongly affects photoreceptor imaging in diseased retina ARVO conference, poster board number 4934 - B0062 (2015).