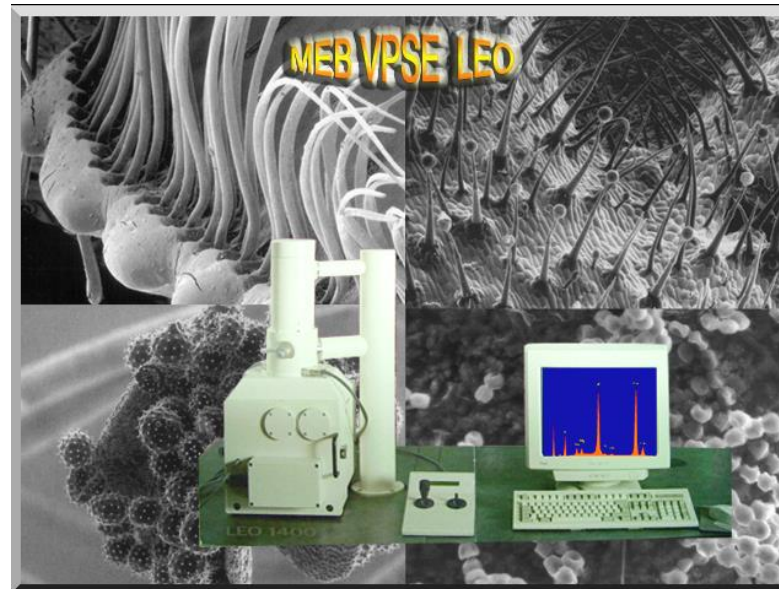


## *L'imagerie contigüe en microscopie électronique à balayage.*



## CÉRAMIQUE PHOSPHOCALCIQUE

### Propriétés

Biocompatible

Bioactif

Ostéoconducteur

Substitut osseux résorbable

Micro-macroporeux

Injectable

### Domaines d'applications

Orthopédie

ORL

Odontologie



Granules

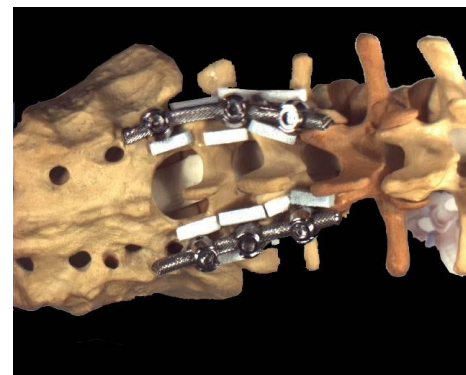
Blocs



Coins

Cylindres

Pâtes



Ciment

...

## Protocole d'étude des biomatériaux phosphocalciques

**Expérimentation animale:** Lapin, rat, chien, chèvre, mouton, souris

### Site d'implantation :

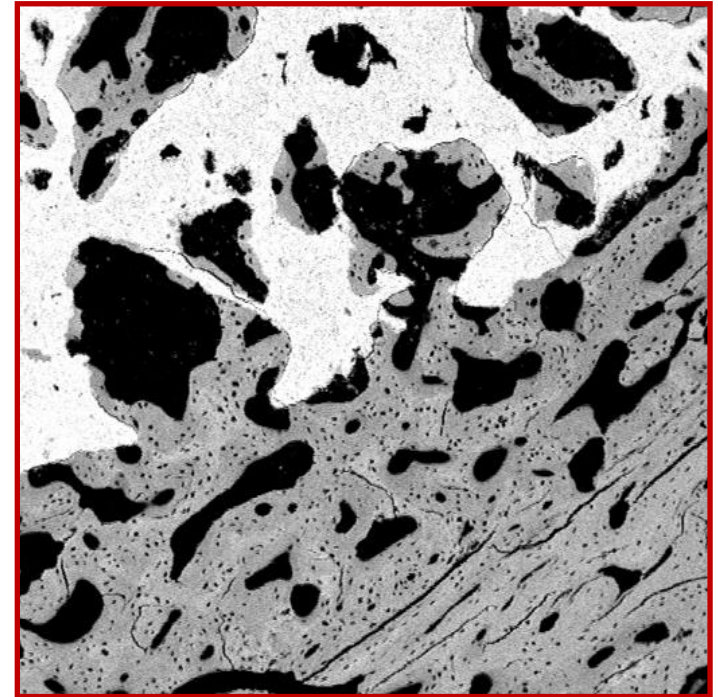
- os long (Fémur, tibia, ulna)
- calvaria,
- vertèbre
- Mandibule
- Sous-cutané

### Conditions d'expérimentation :

- Formulation, structure
- Durée
- Association avec des molécules
- Association avec des polymères
- Irradiation

### Préparation des échantillons après explantation

- Fixation formol
- Deshydratation alcool croissant et acétone
- Imprégnation et polymérisation en résine GMA
- Tronçonnage des blocs
- Polissage, métallisation carbone ou or-palladium
- Observation Meb en mode électrons rétrodiffusés



Vue partielle d'un défaut osseux en zone fémorale comblé avec un biomatériau phosphocalcique

## Fenêtre principale du contrôle du programme de l'imagerie contigüe

**Conditions d'enregistrement des images**

**Utilitaires de modification des images**

**Conditions de détecteur : Choix et réglage**

**Variables de fonctionnement du MEB**

**Calcul du nombre de lignes et de colonnes**

## Calcul du centre de gravité des échantillons et du nombre d'images

**Grand échantillon** : ne rentrant pas dans le champ image au plus faible grossissement du MEB

$$\text{origine\_X} = (P1x + P2x + P3x + P4x) / 4$$

$$\text{origine\_Y} = (P1y + P2y + P3y + P4y) / 4$$

$$\text{origine\_X} = (P2x + P4x) / 2$$

$$\text{origine\_Y} = (P1y + P3y) / 2$$

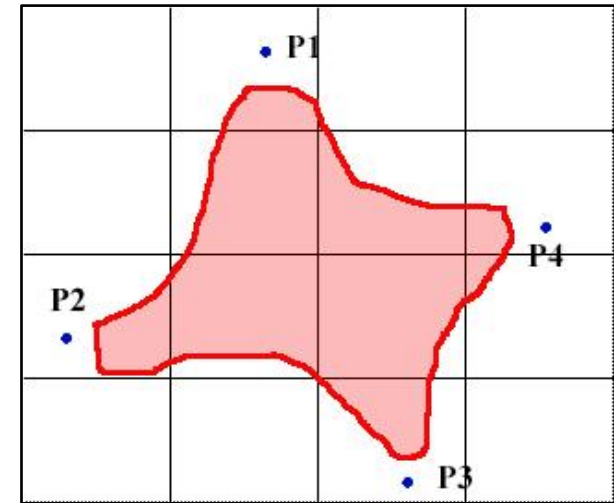
$$\text{Nb lignes} = \text{Round}((\text{Abs}(P1y - P3y) / H_{um}), 0) + 1$$

$$\text{Nb colonnes} = \text{Round}((\text{Abs}(P2x - P4x) / W_{um}), 0) + 1$$

Avec H la hauteur de l'image, W la largeur de l'image

um : unité métrique

Round : fonction 'arrondi', abs : fonction 'valeur absolu'



**Petit échantillon** : rentrant dans le champ image au plus faible grossissement du MEB

Exemple pour un format d'image de 1024 pixels \* 768 pixels)

$$\text{origine\_X} = \text{pos\_X} + \text{pixelsize} * (512 - (\text{X\_toggle}_{(\text{pix})} + \text{W\_toggle}_{(\text{pix})}/2))$$

$$\text{origine\_Y} = \text{pos\_Y} - \text{pixelsize} * (384 - (\text{Y\_toggle}_{(\text{pix})} + \text{H\_toggle}_{(\text{pix})}/2))$$

pixelsize : valeur du pixel, Toggle : cadre de réglage, X\_toggle et Y\_toggle coordonnées du cadre de réglage dans l'image

$$\text{Nb lignes} = \text{Int}((\text{image\_mag} * \text{H\_toggle}_{(\text{pix})}) / (\text{actual\_mag} * 768)) + 1$$

$$\text{Nb colonnes} = \text{Int}((\text{image\_mag} * \text{W\_toggle}_{(\text{pix})}) / (\text{actual\_mag} * 1024)) + 1$$

Image\_mag : grossissement final désiré

actual\_mag : grossissement d'observation

## Calcul des facteurs de déplacement et « loi du pouième »

Les coordonnées de l'image (x, y) sont les coordonnées du centre de l'image

**W**<sub>unité métrique</sub> : largeur d'écran(pix) \* Valeur du pixel

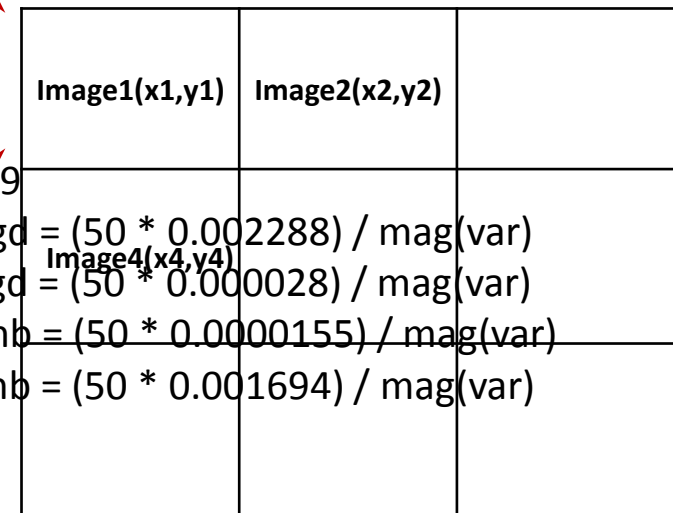
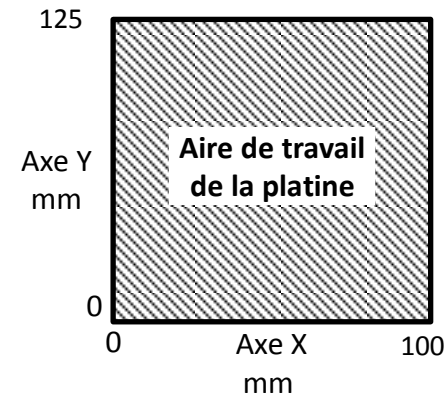
**H**<sub>unité métrique</sub> : Hauteur d'écran(pix) \* Valeur du pixel

$$X2 = X1 + W \pm \text{coefficient de correction horizontale en X } (c_1)$$

$$Y2 = Y1 \pm \text{coefficient de correction horizontale en Y } (c_2)$$

$$X4 = X1 \pm \text{coefficient de correction verticale en X } (c_3)$$

$$Y4 = Y1 + H \pm \text{coefficient de correction verticale en Y } (c_4)$$



Case Is >= 39

$$\text{Dev\_X\_gd} = (50 * 0.002288) / \text{mag}(\text{var})$$

$$\text{Dev\_Y\_gd} = (50 * 0.000028) / \text{mag}(\text{var})$$

$$\text{Dev\_X\_hb} = (50 * 0.0000155) / \text{mag}(\text{var})$$

$$\text{Dev\_Y\_hb} = (50 * 0.001694) / \text{mag}(\text{var})$$

9 images (\* 3)

Ces 4 coefficients sont aussi dépendants des gammes de grossissements.

Faire attention aux déclarations des variables.

Tenir compte du (0,0) de la platine

## Calculs des déplacements de la platine

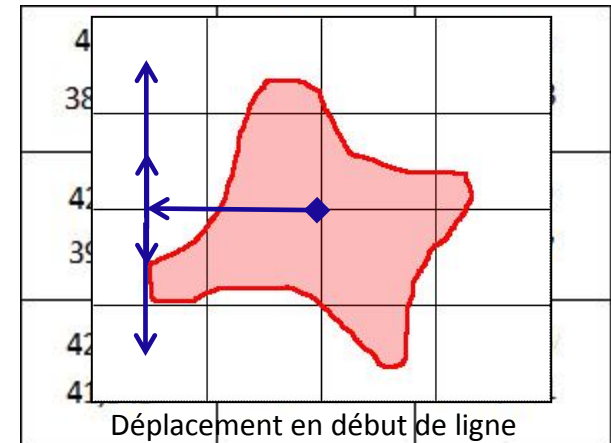
### Déplacement au début des lignes

For  $i = 1$  To  $nbl$  ' $nbl$  : Nombre de lignes

$$\begin{aligned} \text{pos\_X} = & \text{origine\_X} + \text{Dep\_X\_gd} * ((nbc - 1) / 2) \\ & - \text{Dep\_X\_hb} * ((nbl - 1) / 2) + \text{Dep\_X\_hb} * (i - 1) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{pos\_Y} = & \text{origine\_Y} - \text{Dev\_Y\_gd} * ((nbc - 1) / 2) \\ & - \text{Dep\_Y\_hb} * ((nbl - 1) / 2) + \text{Dep\_Y\_hb} * (i - 1) \end{aligned}$$

.....



### Déplacement de colonne en colonne

For  $j = 1$  To  $nbc$  ' $nbc$  : nombre de colonnes

If  $j > 1$  Then

$$\text{pos\_X} = \text{pos\_X} - \text{Dep\_X\_gd} (\pm \text{Dep\_Y\_gd})$$

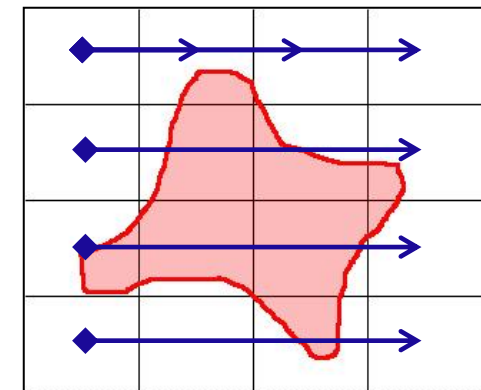
$$\text{pos\_Y} = \text{pos\_Y} + \text{Dep\_Y\_gd} (\pm \text{Dep\_X\_hb})$$

End If

.....

Next  $j$

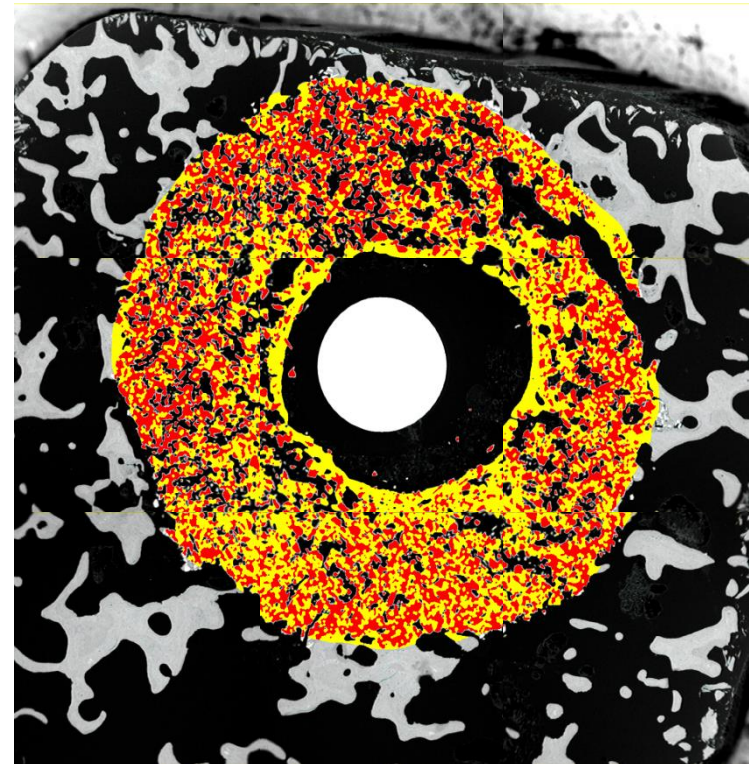
Next  $i$



Déplacement en colonne

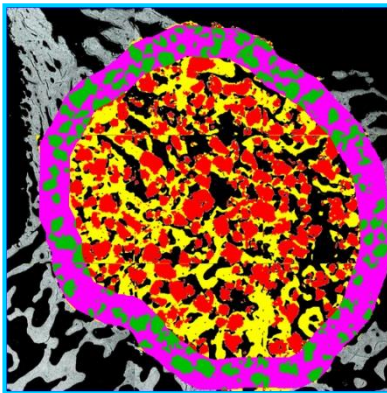
## CÉRAMIQUE PHOSPHOCALCIQUE

Calcul de la repousse osseuse dans un modèle d'implant titane chez le lapin accompagné de granules de phosphate de calcium



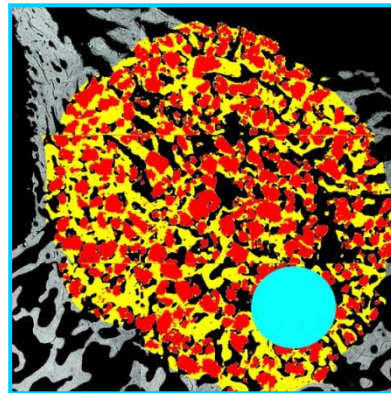
## CÉRAMIQUE PHOSPHOCALCIQUE : Analyses complémentaires

Mise en évidence de la centripétrie de la repousse osseuse



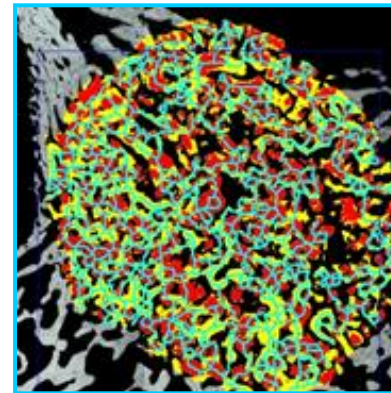
Quantité de repousse osseuse sur des zones circulaires concentriques

Mise en évidence de la distance intergrains sur la repousse osseuse



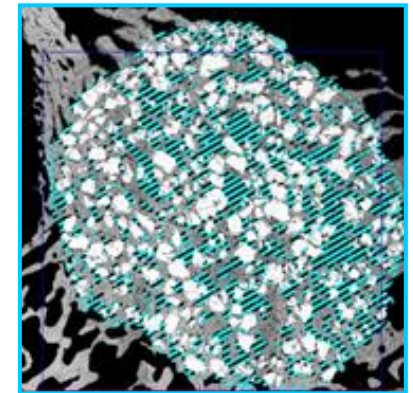
Quantité de repousse osseuse et distance intergrains sur des spots aléatoires

Calcul de paramètres d'architecture



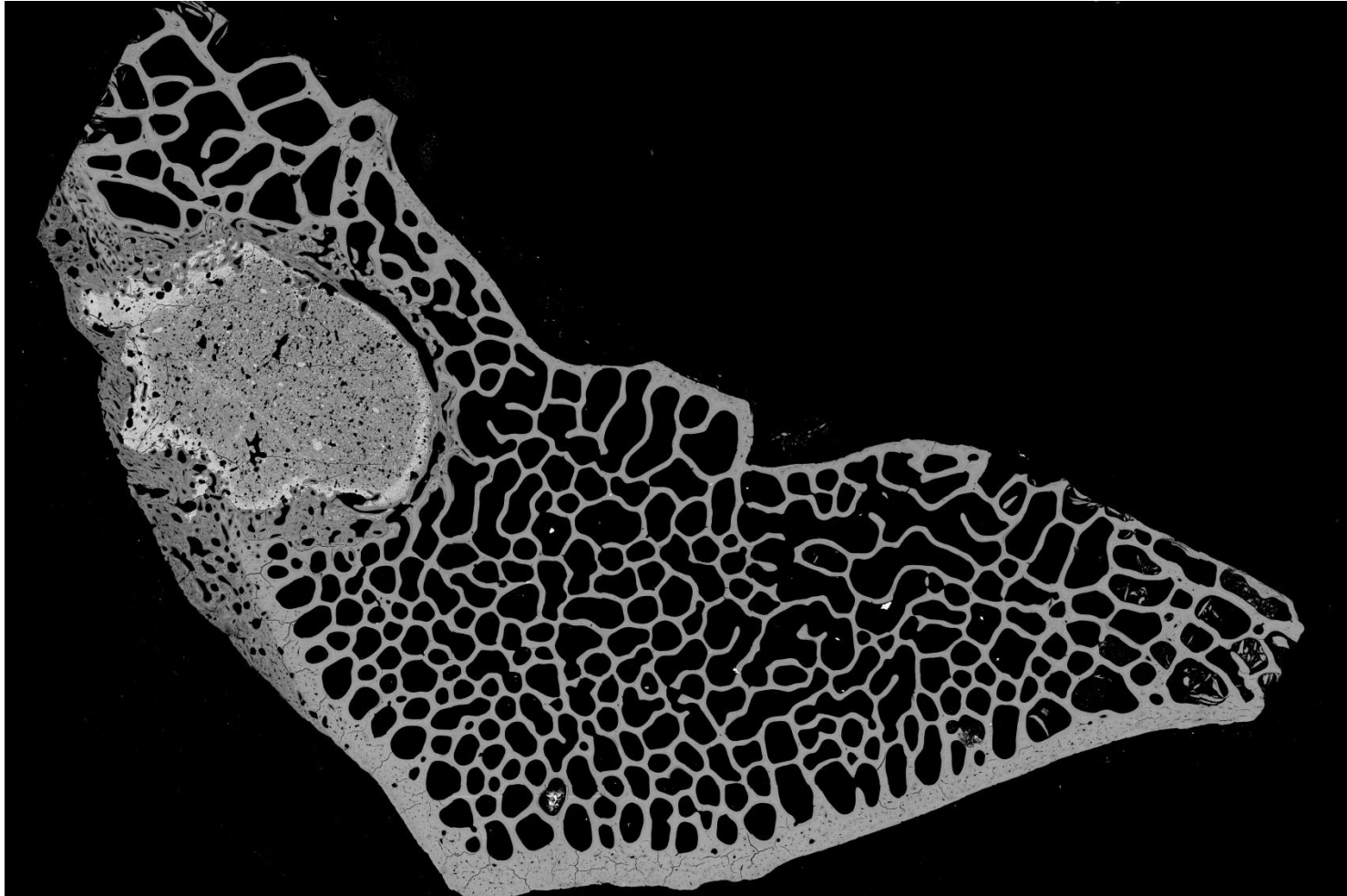
Épaisseur des zones calcifiées, volume et surface d'os, interconnexions, nombre de nœud libre, etc

Calcul du star volume



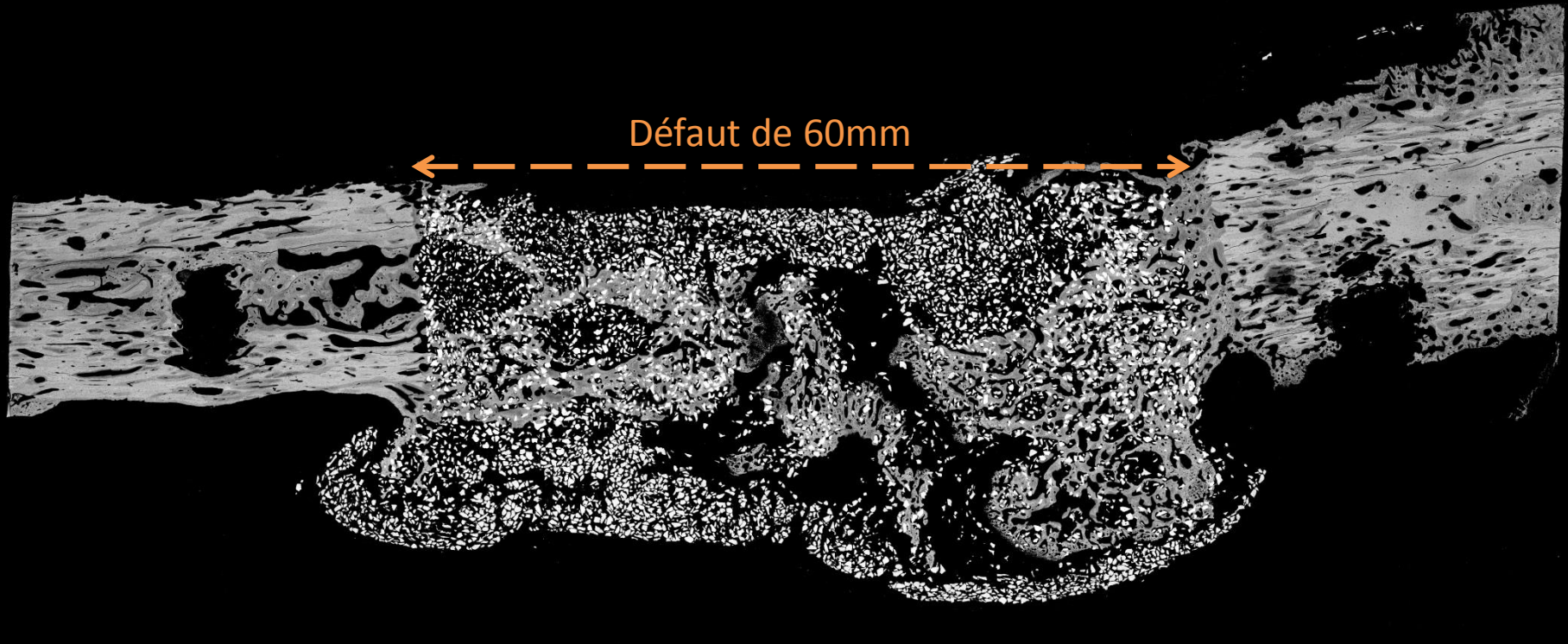
-sur zone calcifiée  
-sur zone non calcifiée

Image de grande taille : Ciment phospho-calcique dans une vertèbre de brebis



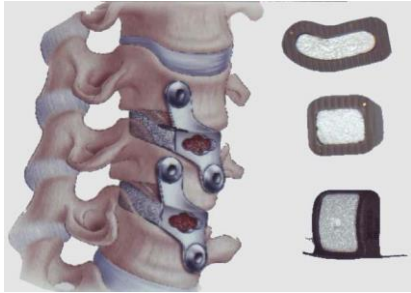
72 images, 9 colonnes et 8 lignes

**Image de grande taille** : défaut de 60mm d'un ulna de chien beagle comblé par un biomatériau phosphocalcique



66 images, 11 colonnes et 6 lignes

## Etude de cages de fusion vertébrales chez la brebis



Cage de fusion

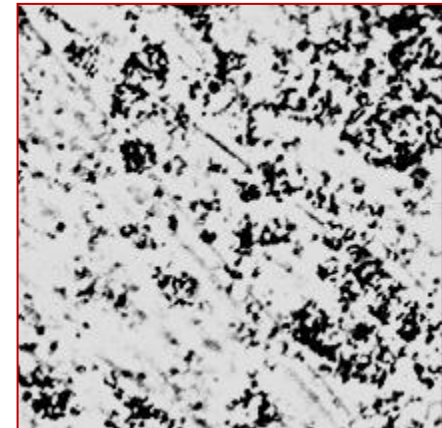
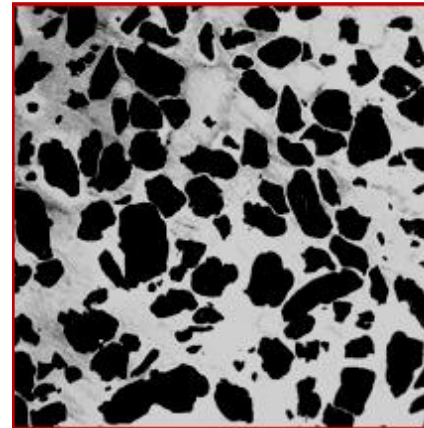
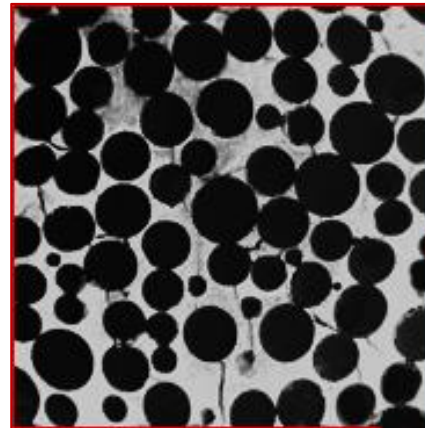
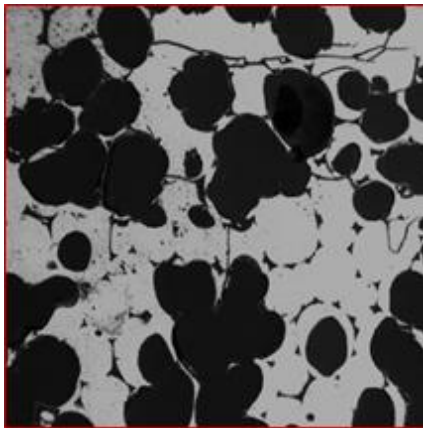
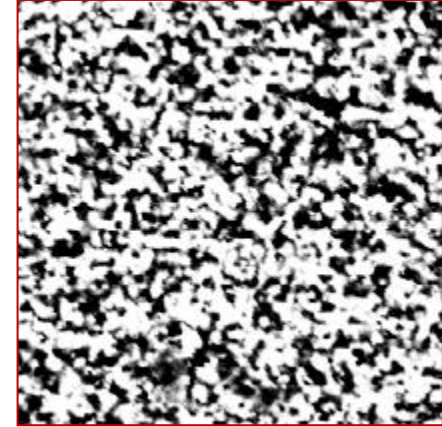
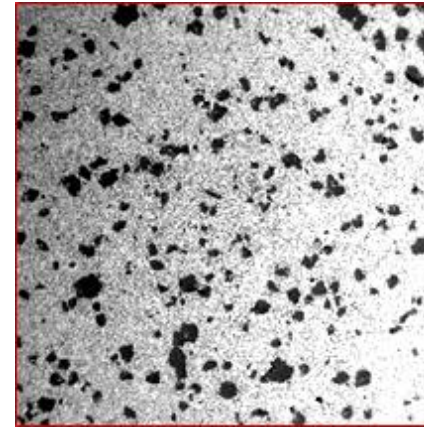
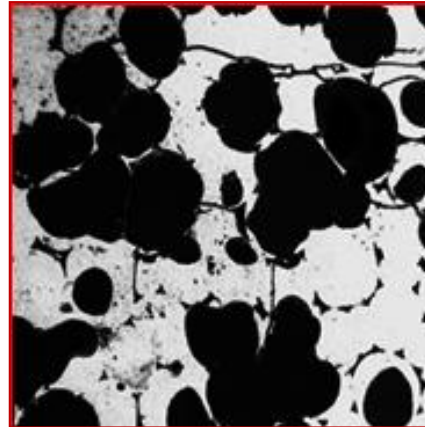
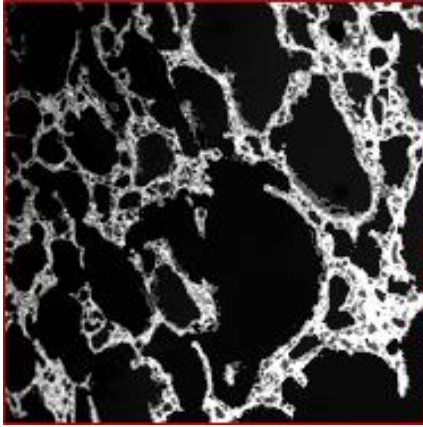


Corps vertébral

Corps verébral

322 images, 14 colonnes et 23 lignes

## Etude de la macroporosité et de la microporosité de céramiques pospho-calciques



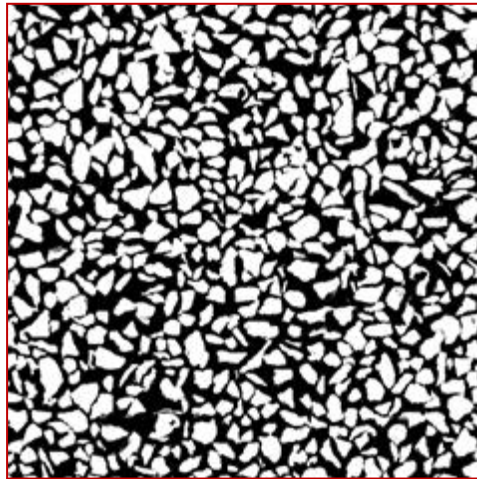
### Macroporosité

Calcul de la surface des macropores et des mésopores, des distances moyennes interpores, de la dispersion des pores, leurs formes, etc

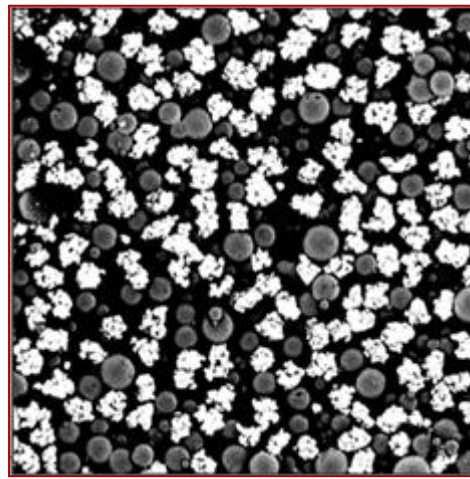
### Microporosité

200 à 500 images par échantillon

## Granulométrie



Population de granules homogènes

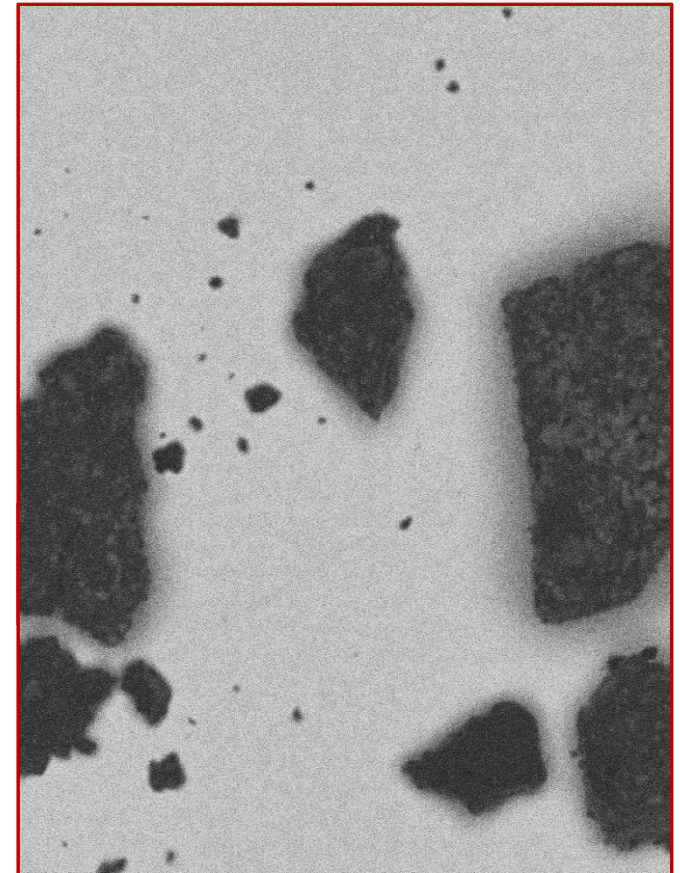


2 Populations de granules différenciables en électrons rétrodiffusés

L'imagerie contigüe facilite le calcul sur des centaines de milliers de particules augmentant la pertinence des résultats

La puissance des ordinateurs permet le calcul sur des images de grandes tailles :

Pas de perte d'information de l'image somme  
résultats fiables sur des populations très hétérogènes



Population de particules très hétérogènes en dimension ( 49 images :  
7 lignes \* 7 colonnes

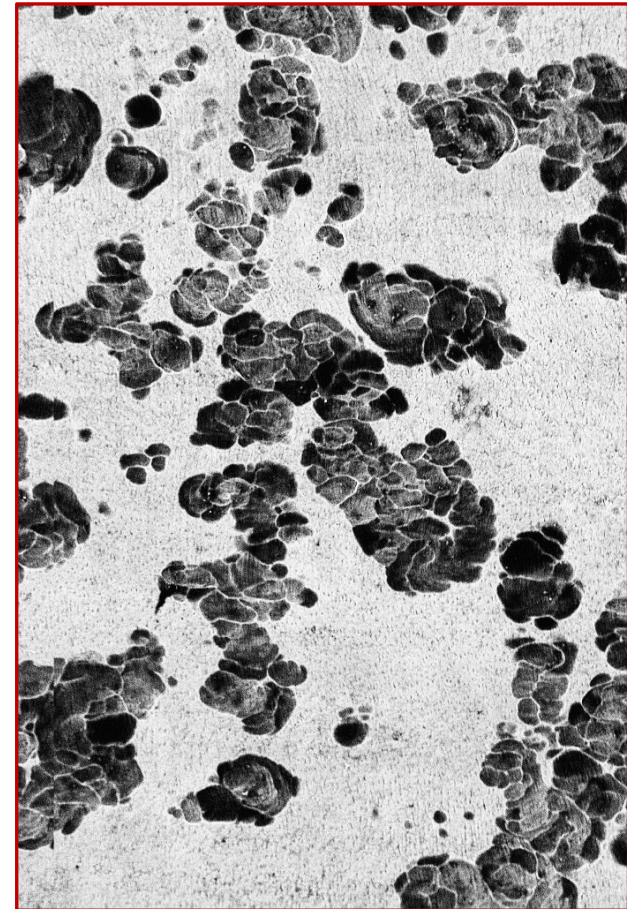
## Modèle d'étude de molécules ayant une action sur les cellules ostéoclastes

### Méthodologie

- Culture d'ostéoclastes sur des pastilles de dentine de cachalot ou d'ivoire d'éléphant
- Elimination des cellules
- Déshydratation, séchage, métallisation
- Acquisition d'images contigües en mode électrons rétrodiffusés
- Calcul de la surface et du nombre de lacunes,



Ostéoclaste sur pastille de dentine (MET)



Lacunes de résorption sur pastille de dentine

## Conclusions

- Automatisation des tâches
  - Valorisation des images par analyse d'image.
  - Quantification fiable et reproductible
  - Meilleure compréhension des modèles
  - Le nombre d'échantillons n'est plus un facteur limitant
  - Enregistrement en dehors des plages horaires des utilisateurs
  - Utilisable même par un non initié du MEB
  - **Intervient dans plus de 40 publications**
- 
- **L'idéal, un meb possédant un langage de programmation**
  - Pour le moins un système d'analyse X largement ouvert
  - Possibilité à l'utilisateur d'avoir accès à toutes les variables du MEB
  - Le calcul des facteurs de déplacement
  - La gestion des moments d'attente du programme
  - Un MEB à grande chambre est préférable
  - Surface des échantillons polie miroir et la plus horizontale possible
  - Échantillons métallisés pour éviter les charges
  - Fonctionne mieux avec les faibles grossissements

**Merci de votre attention**