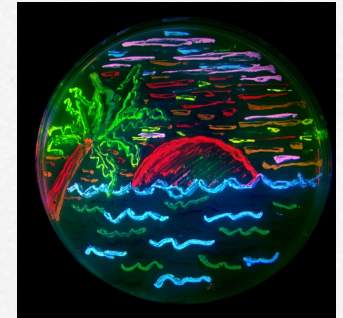


# Détection & tracking de particules fluorescentes

Vannary Meas-Yedid  
Institut Pasteur - CNRS URA 2582  
Unité d'Analyse d'Image Quantitative  
<http://www.bioimageanalysis.org>  
[vmeasyed@pasteur.fr](mailto:vmeasyed@pasteur.fr)

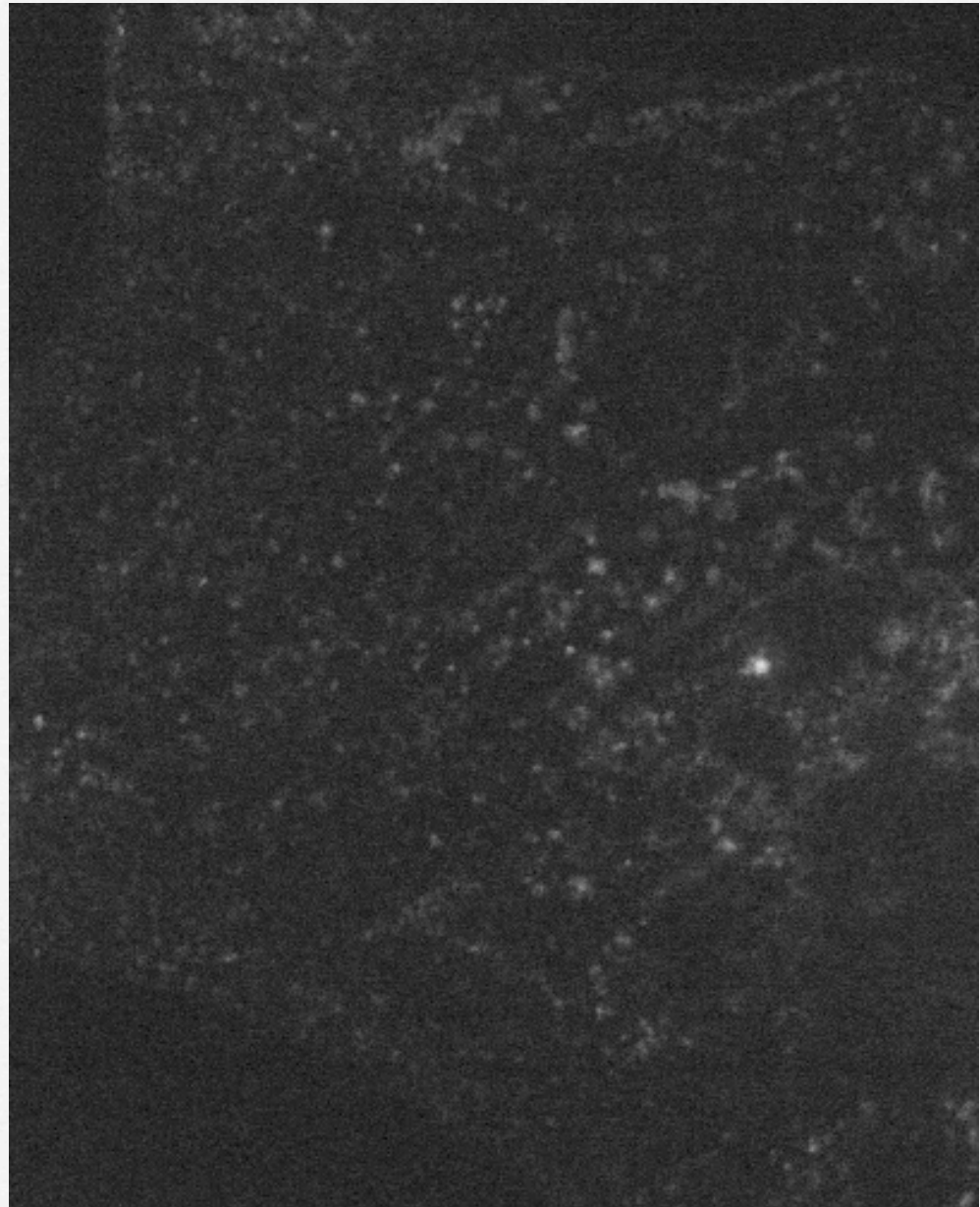


# Motivations et objectifs



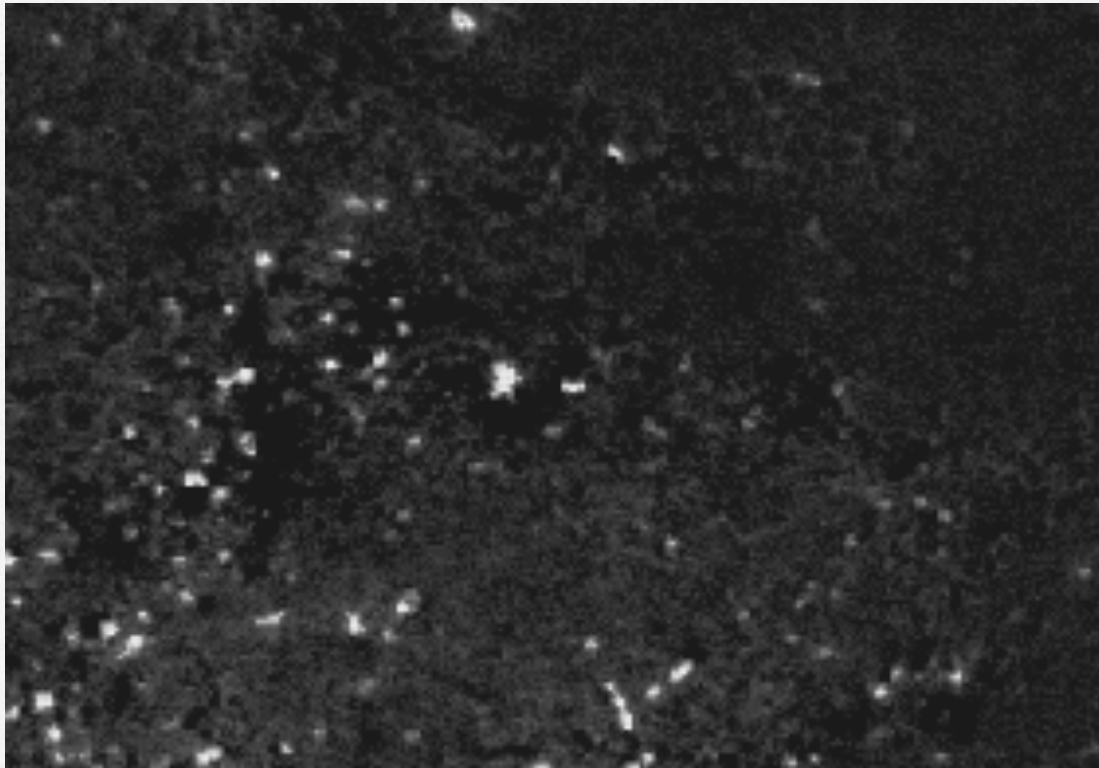
- Les techniques modernes de microscopies permettent d'observer efficacement divers compartiments cellulaires et entités intracellulaires (vésicules, endosomes, virus, etc.)
- Etude de la dynamique d'objets biologiques en microscopie 2D/3D+t
- But : fournir des méthodes permettant de
  - gérer la grande variabilité des données biologiques
  - augmenter la sensibilité et la spécificité de l'analyse
  - fournir des résultats robustes, quantitatives et reproductibles

Golgi units in  
Hela cells





# Problématique

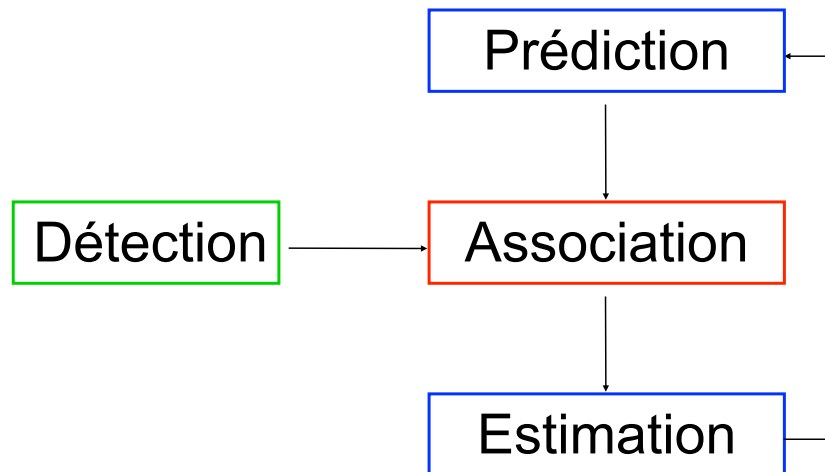


## Difficultés:

- aspect difficilement modélisable
- très bruité, faible SNR
- nombre élevé d'objets
- peuvent apparaître/disparaître
- peuvent s'agglomérer



# Tracking bayésien



## ► Détection

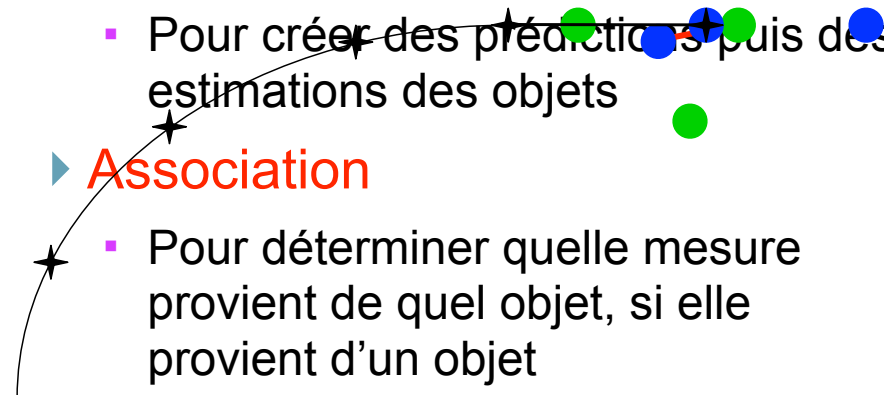
- Pour obtenir des mesures des objets

## ► Filtrage bayésien

- Pour créer des prédictions puis des estimations des objets

## ► Association

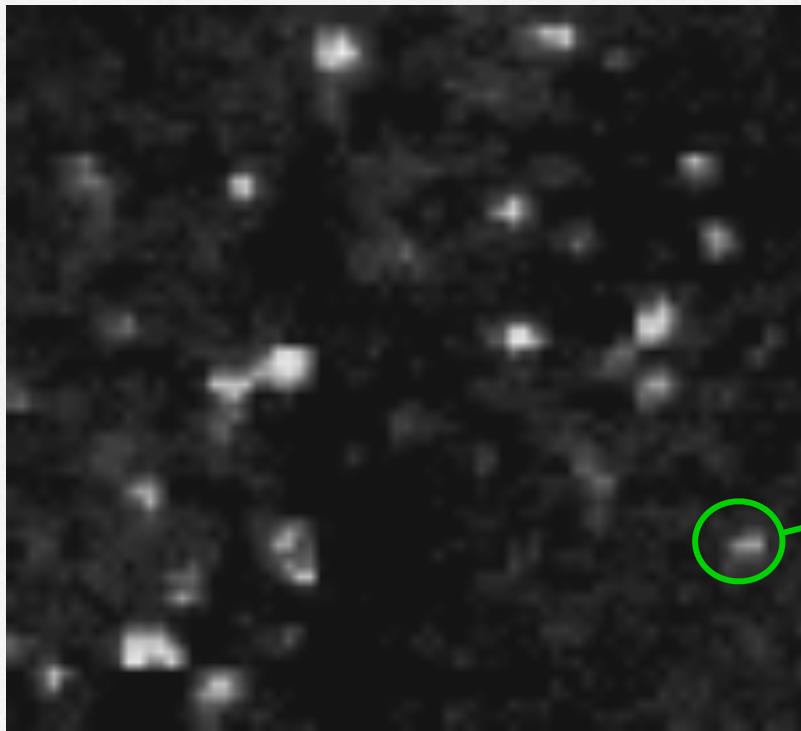
- Pour déterminer quelle mesure provient de quel objet, si elle provient d'un objet





# Détection

- ▶ objectif : produire des mesures des objets



$$\mathbf{z}_t = \begin{bmatrix} x_t \\ y_t \\ z_t \\ v_t \\ i_t \end{bmatrix}$$

Détection de taches  
fluorescentes

[Olívo-Marín:2002]

[Cuartero:2001]

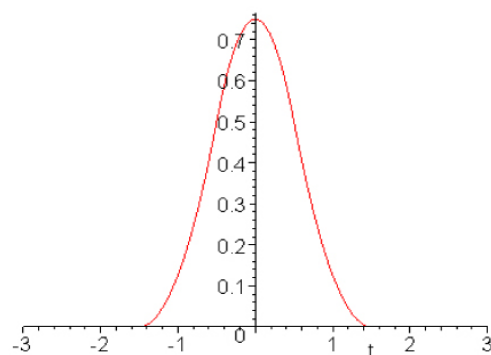
[Zhang:2003]



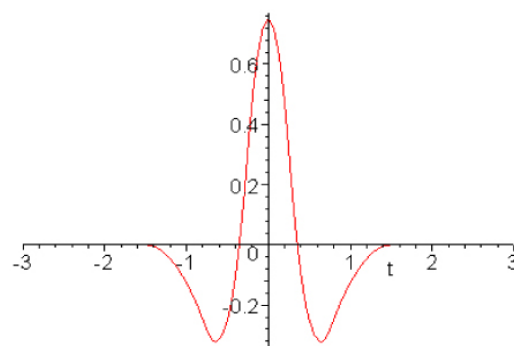
# Spot Detection by Wavelet Transform

## Features of the wavelet transform

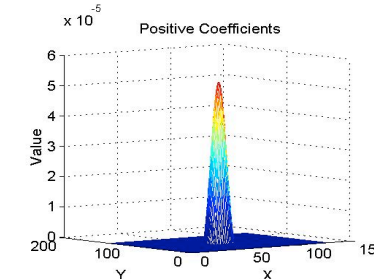
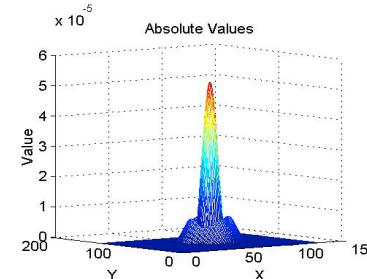
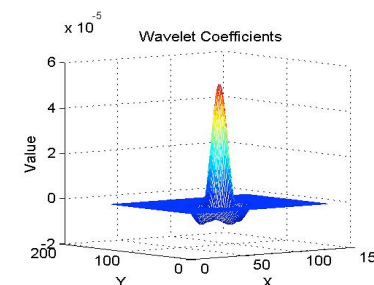
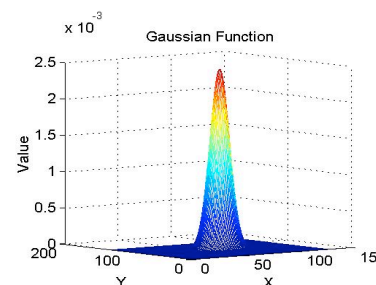
- Based on the convolution of the signal with a family of functions derived from a “mother” function by translation and dilation



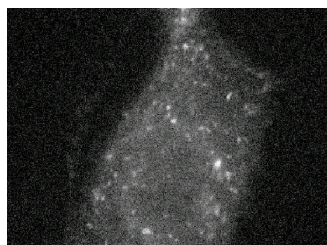
B2 - scale function



B2 - wavelet function



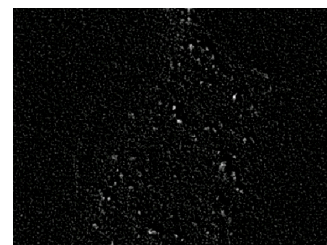
- Analysis tool that cuts up data into different frequency components and studies each with a resolution adapted to its scale



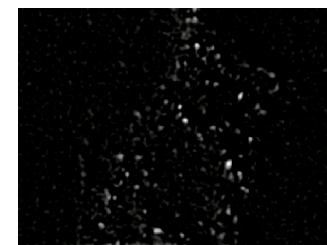
Original



1st scale



2nd scale

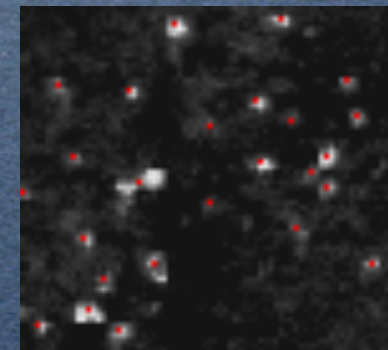
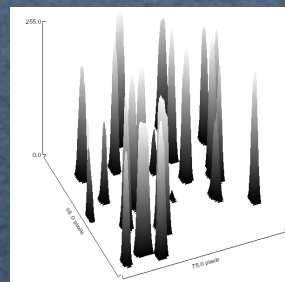
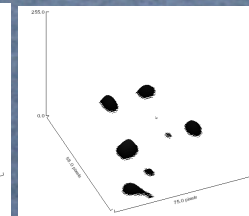
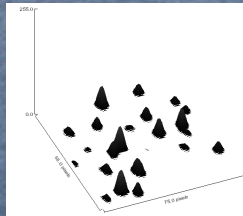
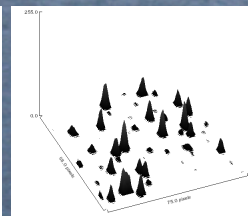
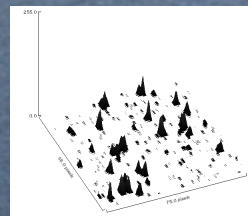
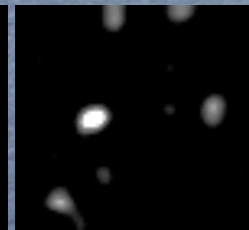
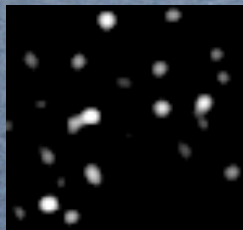
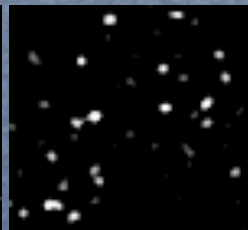
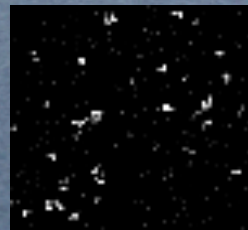
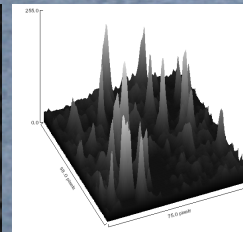
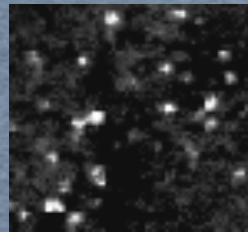
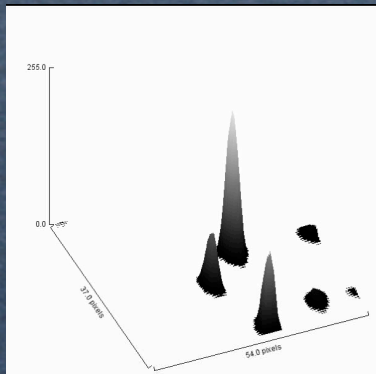
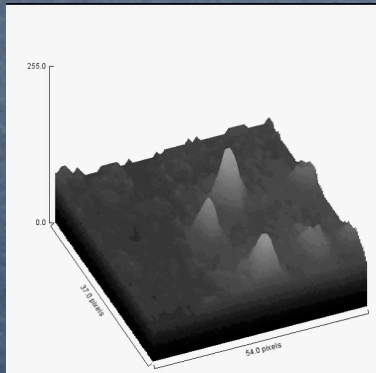


3rd scale



# Spot Detection

Noise  
reduction

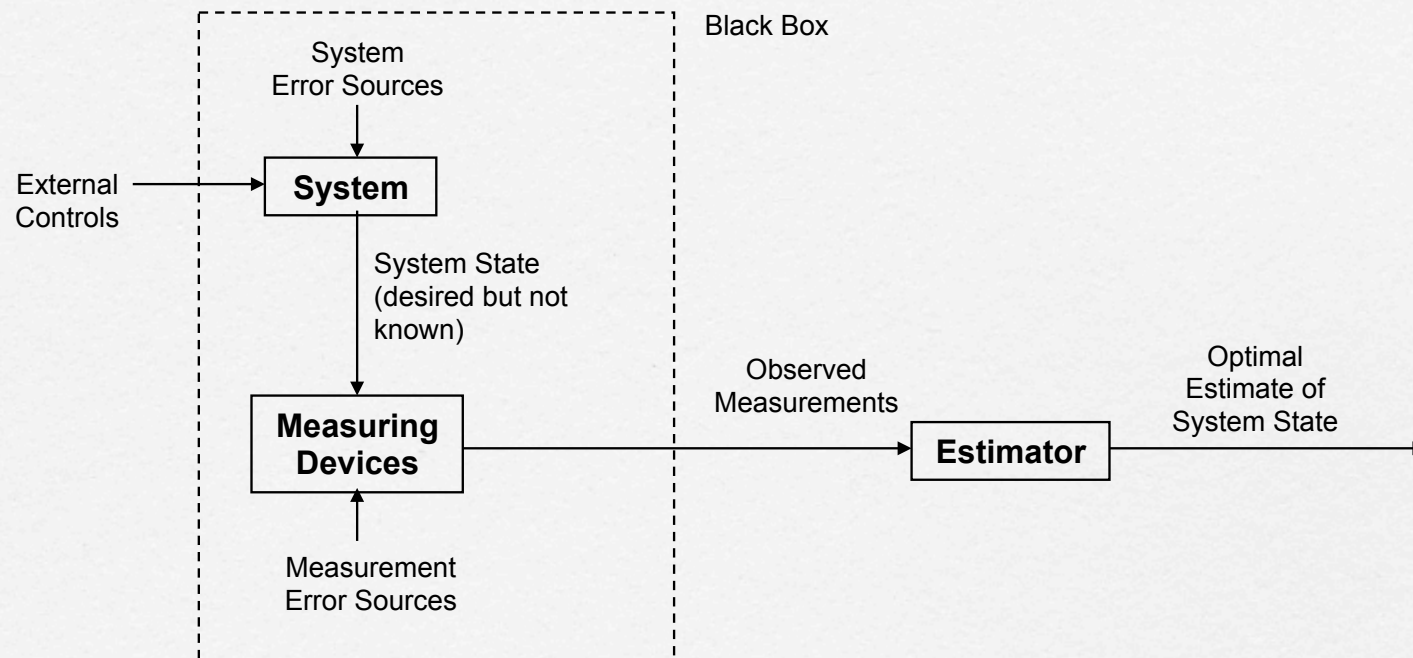


Improved  
detection

Oliver-Martin, J.-C., *Pattern Recognition* (2002)

Feature Adapted Detection with Wavelet Transform

# Filtre de Kalman : problème



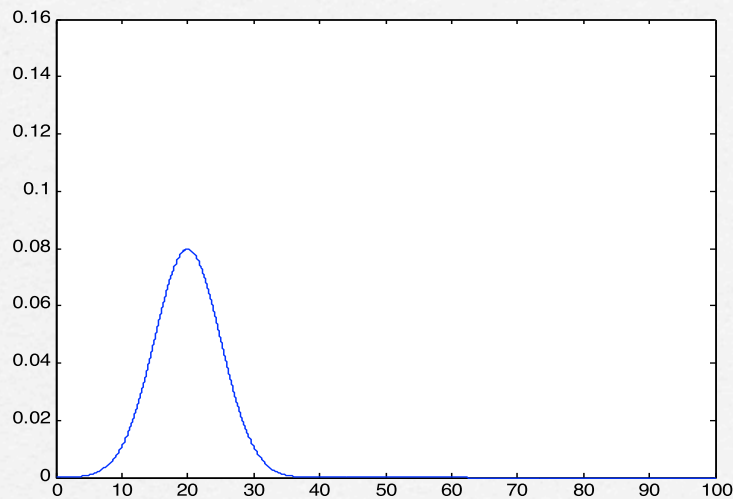
Le système ne peut pas être mesuré directement  
Estimation «optimale» à partir des mesures



# Filtre de Kalman

- ▶ Algorithme récursif de traitement de données
- ▶ Génère un estimé optimal des quantités désirées à partir d'un ensemble de mesures
- ▶ Optimal ?
  - ▶ Pour un système linéaire avec du bruit blanc gaussien, le filtre de Kalman est le 'meilleur' estimé
  - ▶ pour un système non linéaire, l'optimalité est 'qualifié'
- ▶ Récursif ?
  - ▶ Ne nécessite que de connaître que les précédentes mesures

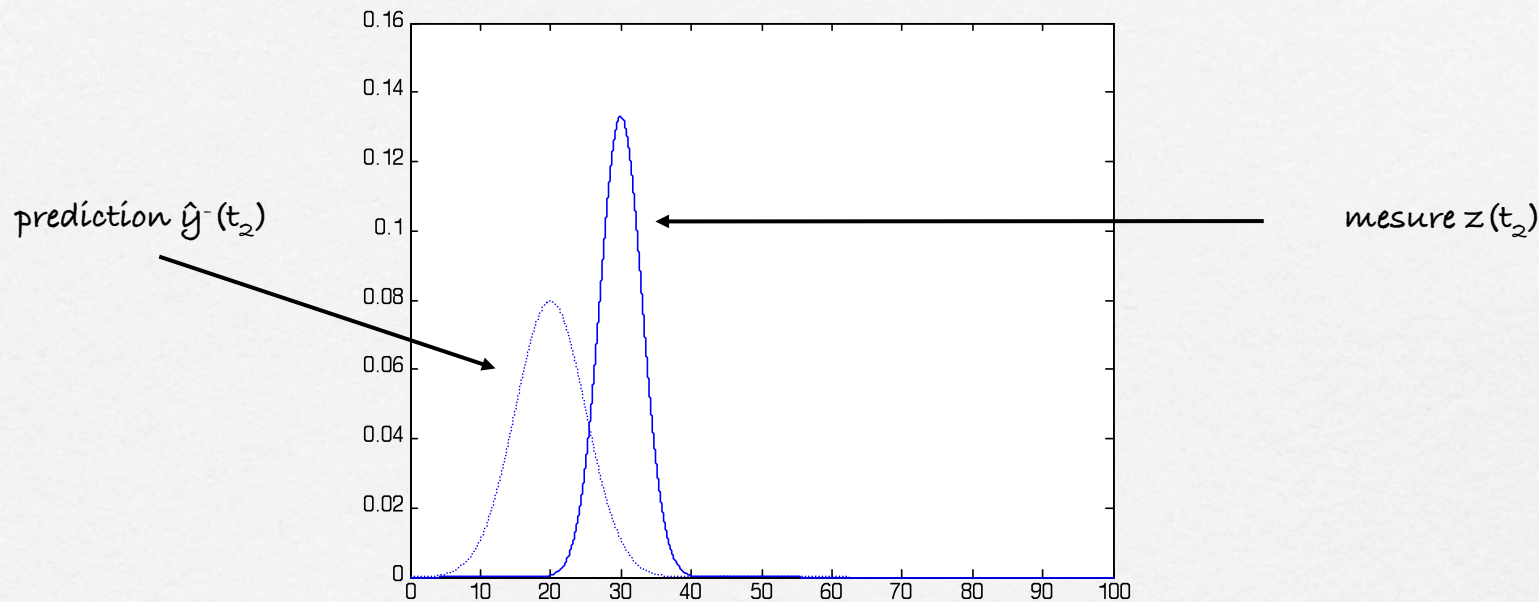
# Filtre de Kalman



- Au temps  $t_1$ : moyenne =  $z_1$  and Variance =  $\sigma_{z1}$
- Estimée optimale de la position :  $\hat{y}(t_1) = z_1$
- Variance de l'erreur dans l'estimée:  $\sigma_x^2(t_1) = \sigma_{z1}^2$
- Objet à la même position au temps  $t_2$  - position **prédite** est  $z_1$

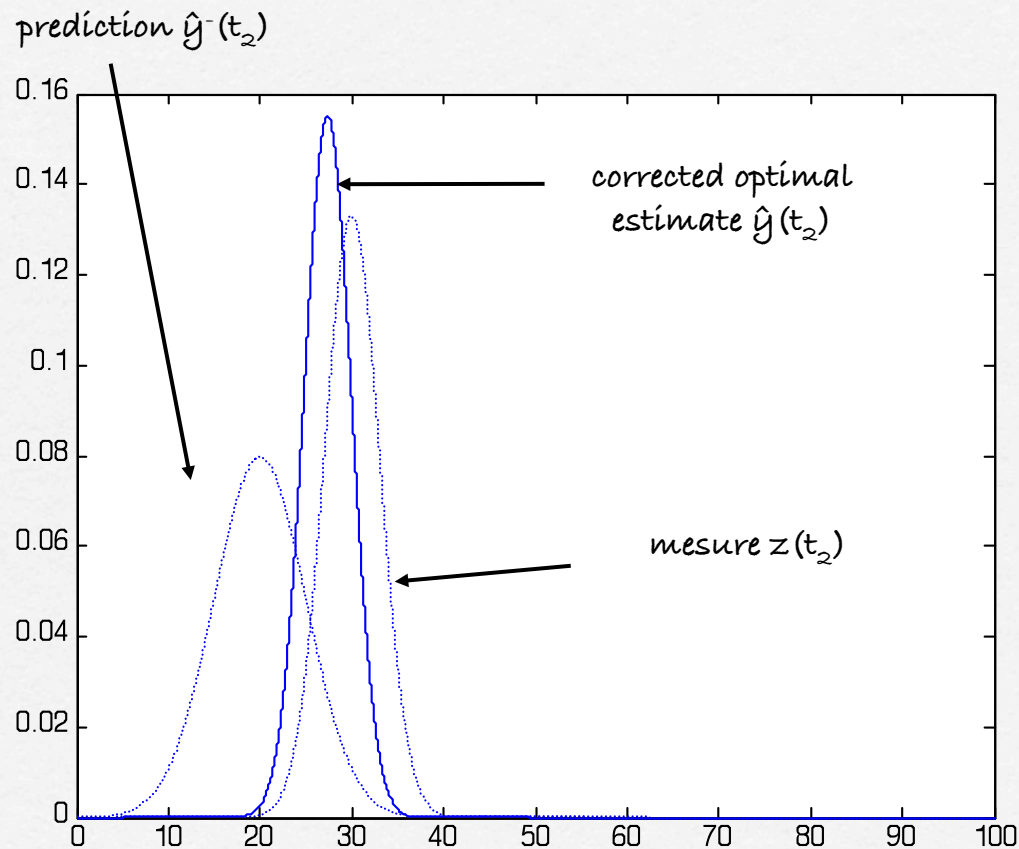


# Filtre de Kalman



- Prédiction  $\hat{y}^-(t_2)$
- Mesure au temps  $t_2$ : Moyenne =  $z_2$  and Variance =  $\sigma_{z2}$
- *Correction* de la prédiction en intégrant la mesure pour avoir  $\hat{y}(t_2)$
- Proche de mesure plus fiable – interpolation linéaire?

# Filtre de Kalman



- La moyenne corrigée est la nouvelle estimée de la position
- La nouvelle variance est plus faible que les deux précédentes variances



Prédiction à partir des données précédentes -  $\hat{y}^-, \sigma_y^-$



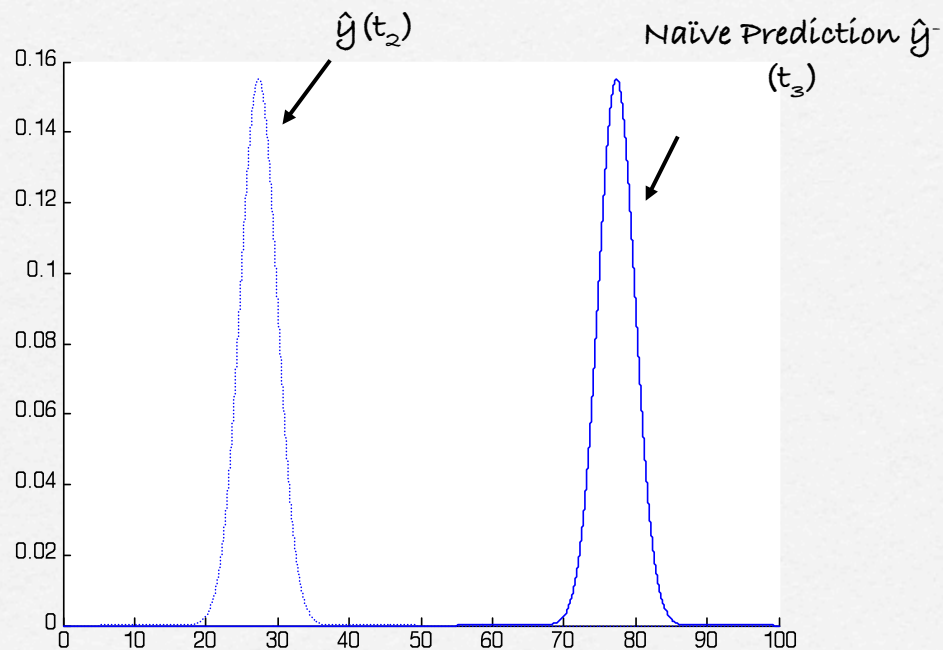
Mesure -  $z_k, \sigma_z$



Estimée Optimale ( $\hat{y}$ ) = Prediction + (Kalman Gain) \* (Measure - Prediction)

Variance de l'estimée = Variance de la prediction \* (1 - Kalman Gain)

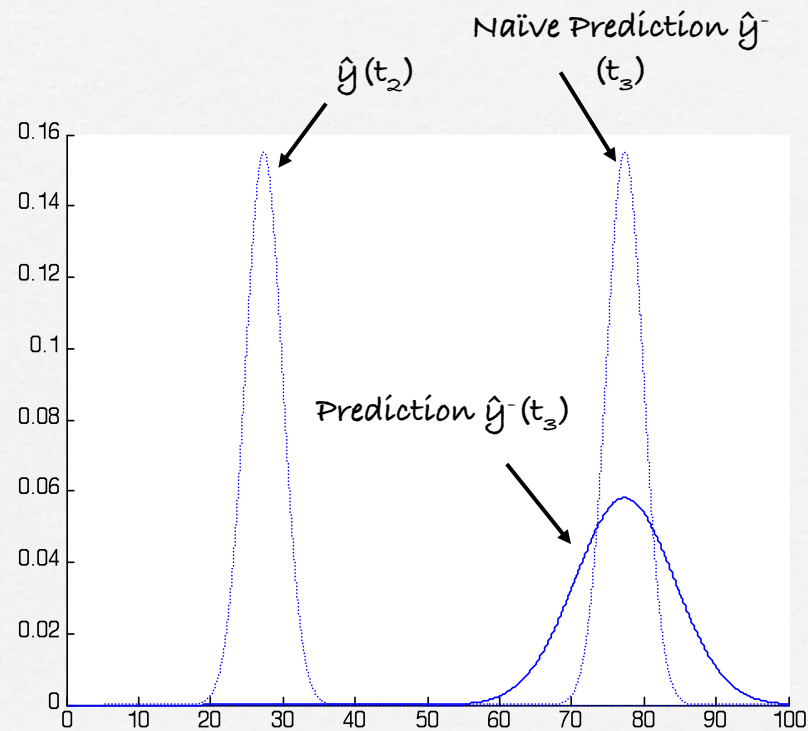
# Filtre de Kalman



- Au temps  $t_3$ , l'objet bouge avec une vitesse  $dy/dt=u$
- Approche naïve : probabilité de translation à droite pour la prédiction
- Cela ne fonctionne que si nous connaissons exactement la vitesse (modèle parfait)

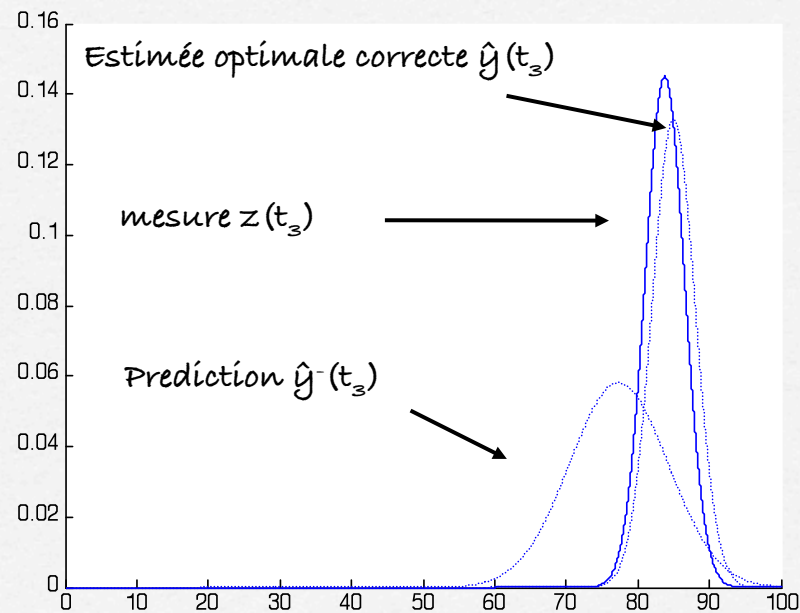


# Filtre de Kalman



- Il vaut mieux supposer un modèle imparfait (+bruit Gaussien)
- $dy/dt = u + w$
- La distribution de la prédiction bouge et s'étale

# Filtre de Kalman



- Si nous prenons une mesure au temps  $t_3$
- Il faut corriger encore une fois la prédiction
- ...



- Initial conditions ( $\hat{y}_{k-1}$  and  $\sigma_{k-1}$ )
- Prediction ( $\hat{y}_k^-, \sigma_k^-$ )
  - Use initial conditions and model (eg. constant velocity) to make prediction
- Measurement ( $z_k$ )
  - Take measurement
- Correction ( $\hat{y}_k, \sigma_k$ )
  - Use measurement to correct prediction by ‘blending’ prediction and residual – always a case of merging only two Gaussians
  - Optimal estimate with smaller variance

- Process to be estimated:

$$y_k = Ay_{k-1} + Bu_k + w_{k-1} \quad \text{Process Noise (w) with covariance Q}$$

$$z_k = Hy_k + v_k \quad \text{Measurement Noise (v) with covariance R}$$

- Kalman Filter

Predicted:  $\hat{y}_k^-$  is estimate based on measurements at previous time-steps

$$\hat{y}_k^- = Ay_{k-1} + Bu_k$$

$$P_k^- = AP_{k-1}A^T + Q$$

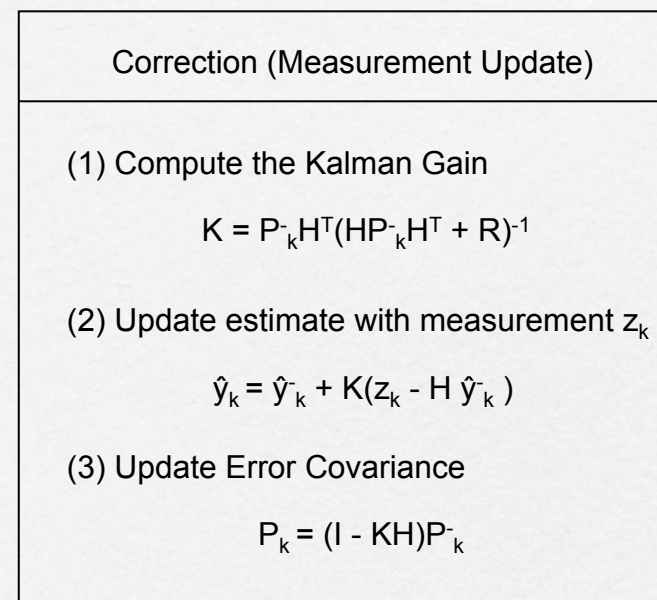
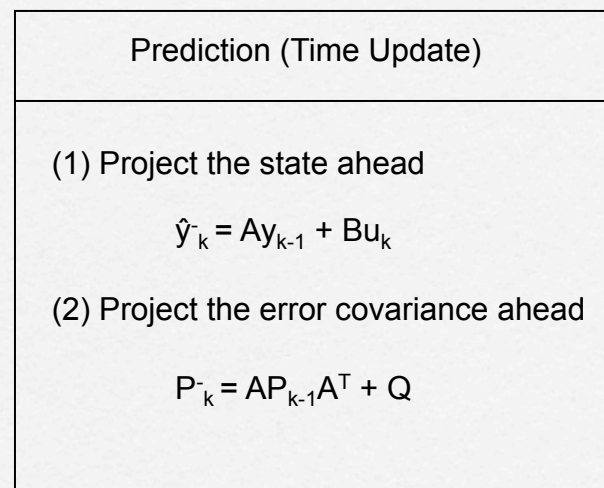
Corrected:  $\hat{y}_k$  has additional information – the measurement at time k

$$\hat{y}_k = \hat{y}_k^- + K(z_k - H\hat{y}_k^-)$$

$$K = P_k^- H^T (HP_k^- H^T + R)^{-1}$$

$$P_k = (I - KH)P_k^-$$

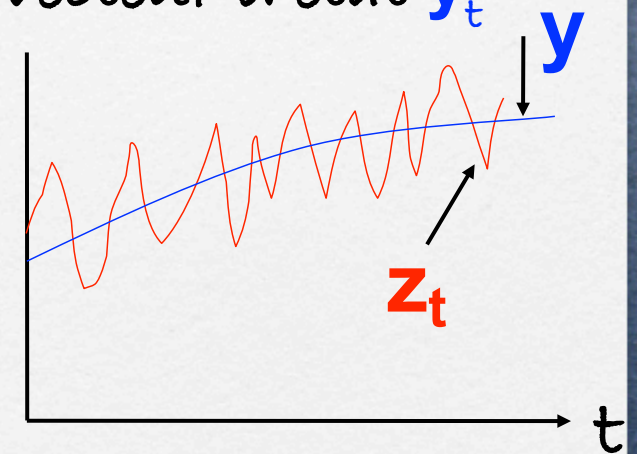




# Filtrage bayésien

► Obtenir la densité de probabilité d'un vecteur d'état  $\mathbf{y}_t$  récurſivement depuis :

- les vecteurs de mesure  $\mathbf{z}_1, \dots, \mathbf{z}_t$ .
- La vraisemblance  $p(\mathbf{z}_t \mid \mathbf{y}_t)$ .
- L'a priori temporel  $p(\mathbf{y}_t \mid \mathbf{y}_{t-1})$



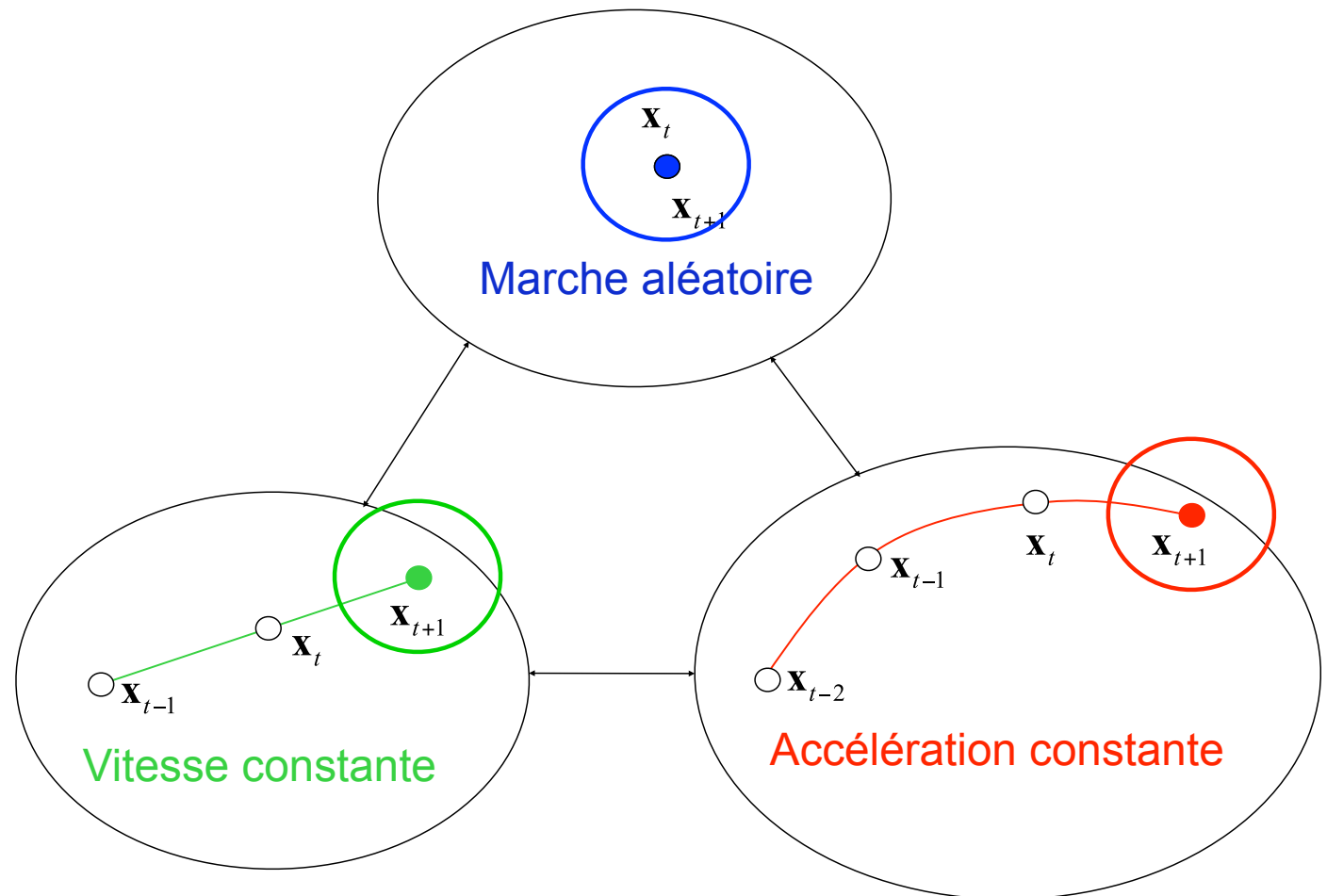
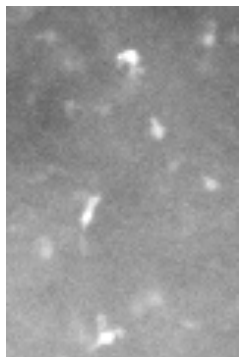
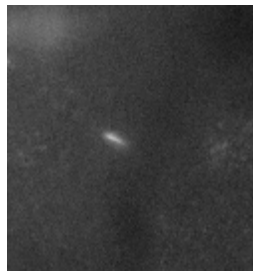
► Donc :

- obtenir  $p(\mathbf{y}_t \mid \mathbf{z}_1, \dots, \mathbf{z}_t)$  depuis  $p(\mathbf{y}_{t-1} \mid \mathbf{z}_1, \dots, \mathbf{z}_{t-1})$



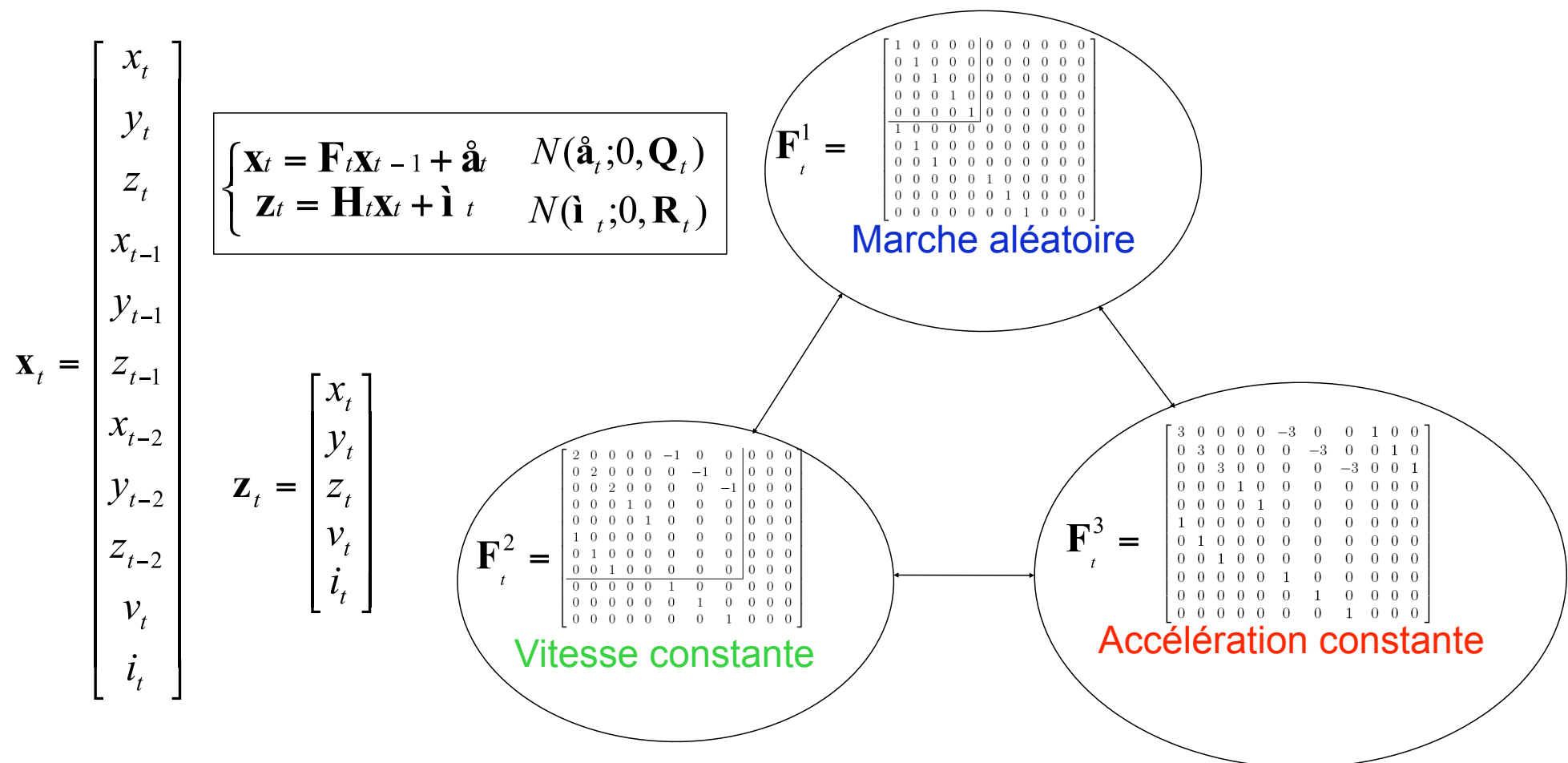
# Filtrage bayésien

## ► Proposition 1 : Modèle d'état



# Filtrage bayésien

## ► Modèle d'état proposé





# Filtrage bayésien

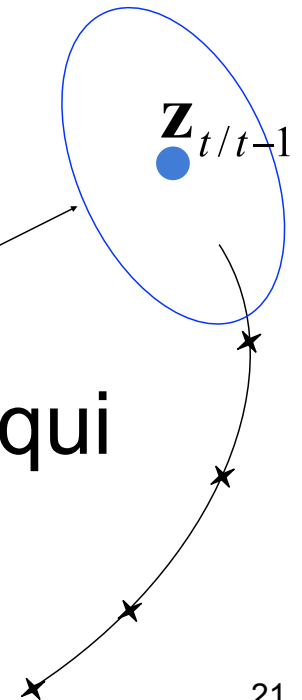
- ▶ Une fenêtre de recherche peut être obtenue avec les KF, EKF et IMM
- ▶ Exemple avec un Filtre de Kalman :

$$\mathbf{z}_{t/t-1} = \mathbf{H}_t \mathbf{F}_t \mathbf{x}_{t-1/t-1}$$

$$\mathbf{S}_t = \mathbf{H}_t \mathbf{Q}_t \mathbf{F}_t \mathbf{P}_{t-1/t-1} \mathbf{F}_t^T \mathbf{H}_t^T + \mathbf{R}_t$$

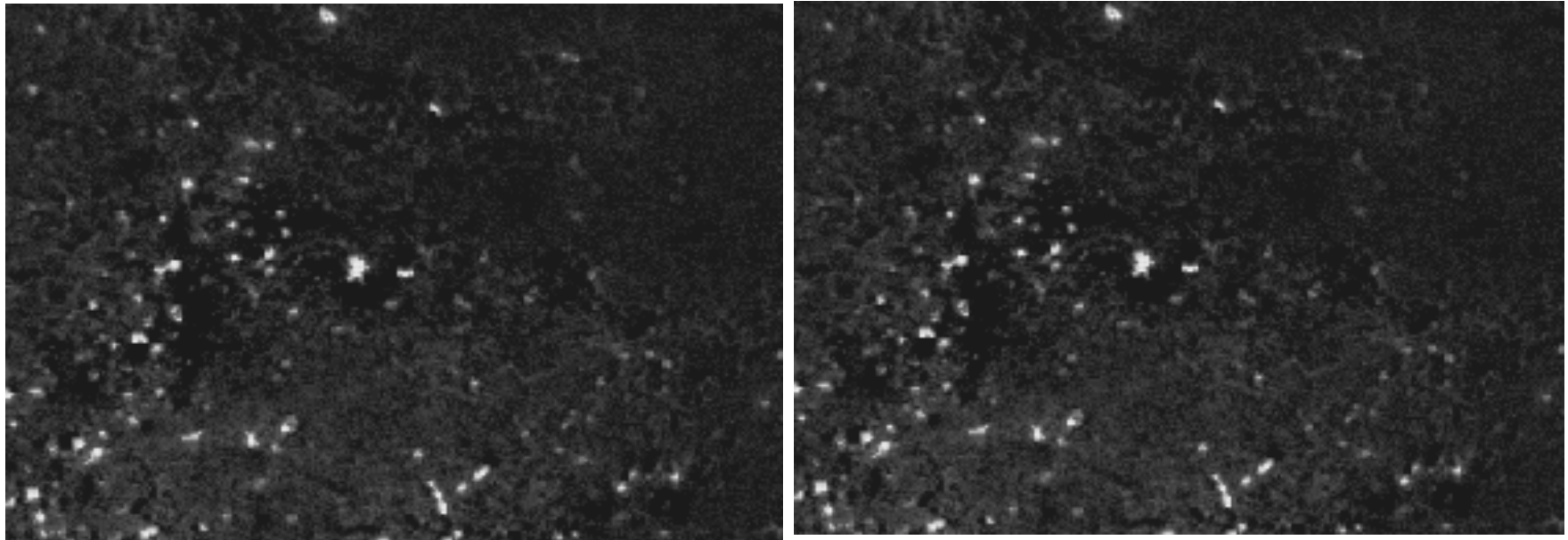
$\text{Pr} > 95\%$  avec  $N(\mathbf{z}_t; \mathbf{z}_{t/t-1}, \mathbf{S}_t)$

- ▶ Proposition 2 : une mise à jour de  $\mathbf{Q}_t$  qui adapte la fenêtre de recherche



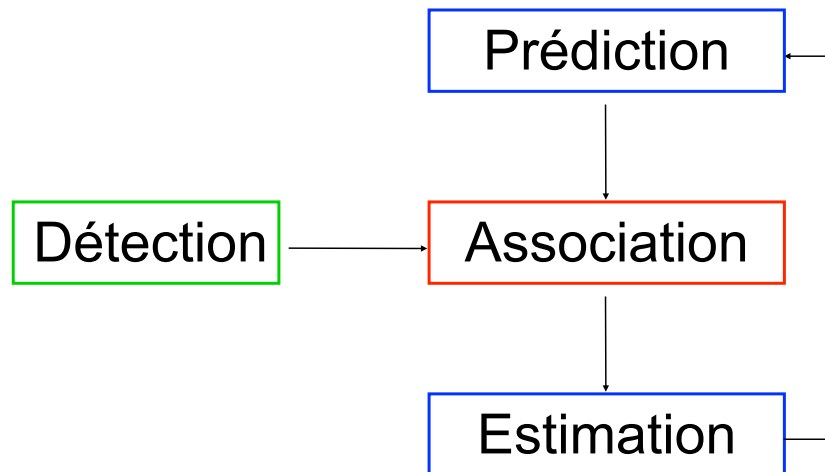
# Adaptation de fenêtre de recherche

- ▶ endosomes





# Association



## ► Détection

- Pour obtenir des mesures des objets

## ► Filtrage bayésien

- Pour créer des prédictions puis des estimations des objets

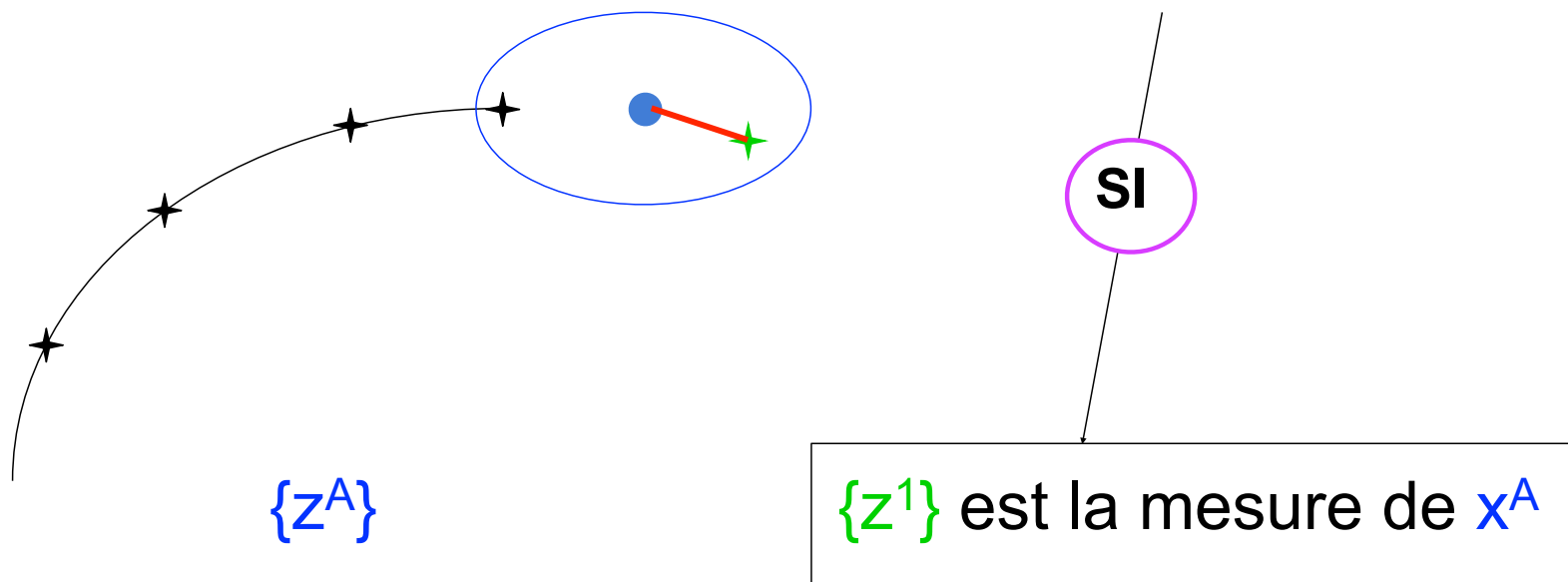
## ► Association

- Pour déterminer quelle mesure provient de quel objet, si elle provient d'un objet

# Association

- ▶ Principe pour 1 objet (4 étapes)
  - prédiction, détection, association et estimation

▶ Pas de problème d'association !

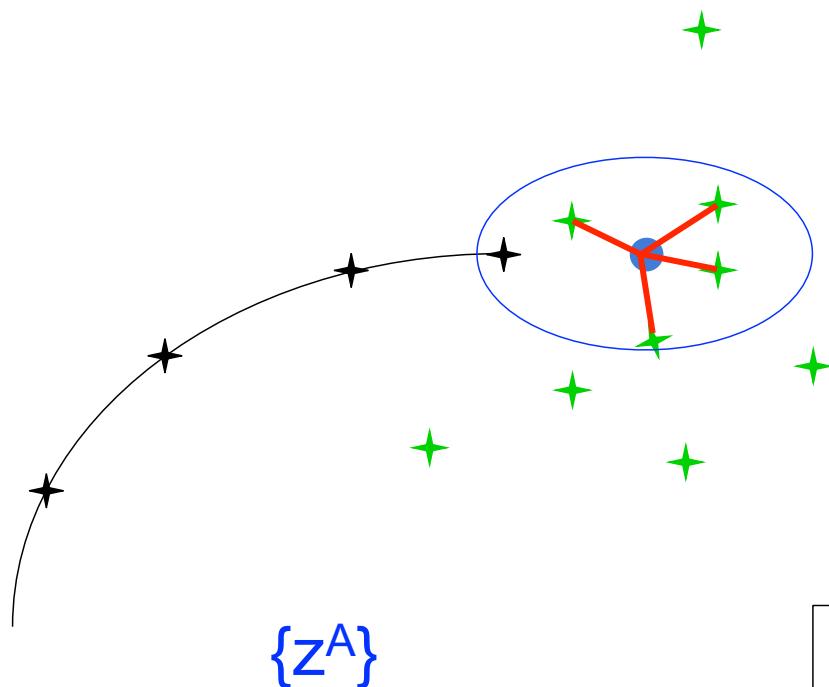


# Association

- ▶ Principe pour 1 objet (4 étapes)
  - prédiction, détection, association et estimation

- ▶ Association avec :

- ▶ ML
- ▶ PDA
- ▶ MHT



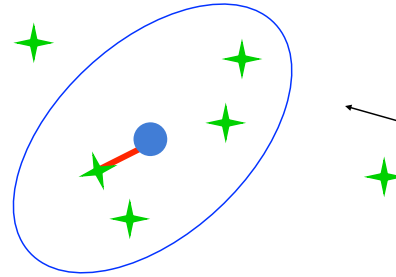
SI

$\{z^1, \dots, z^M\}$  contient la mesure de  $x^A$



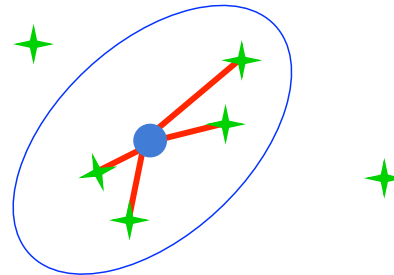
# Association

## ► ML



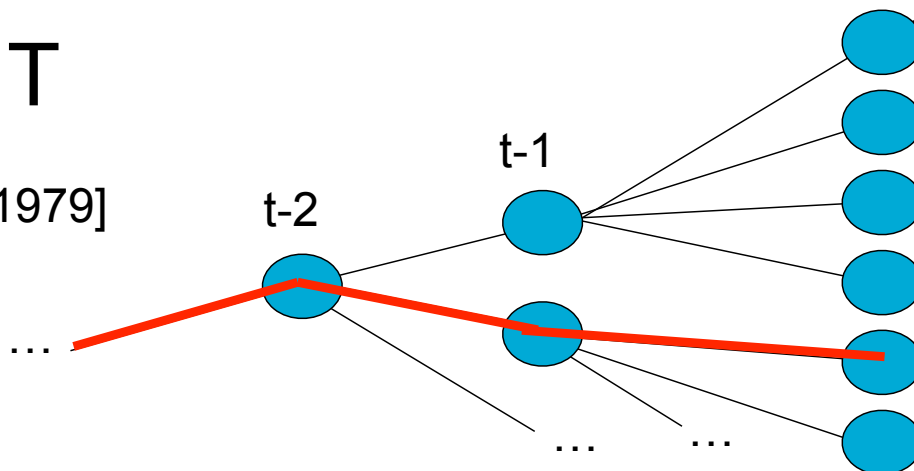
## ► PDA

[Fortmann:1980]



## ► MHT

[reid:1979]

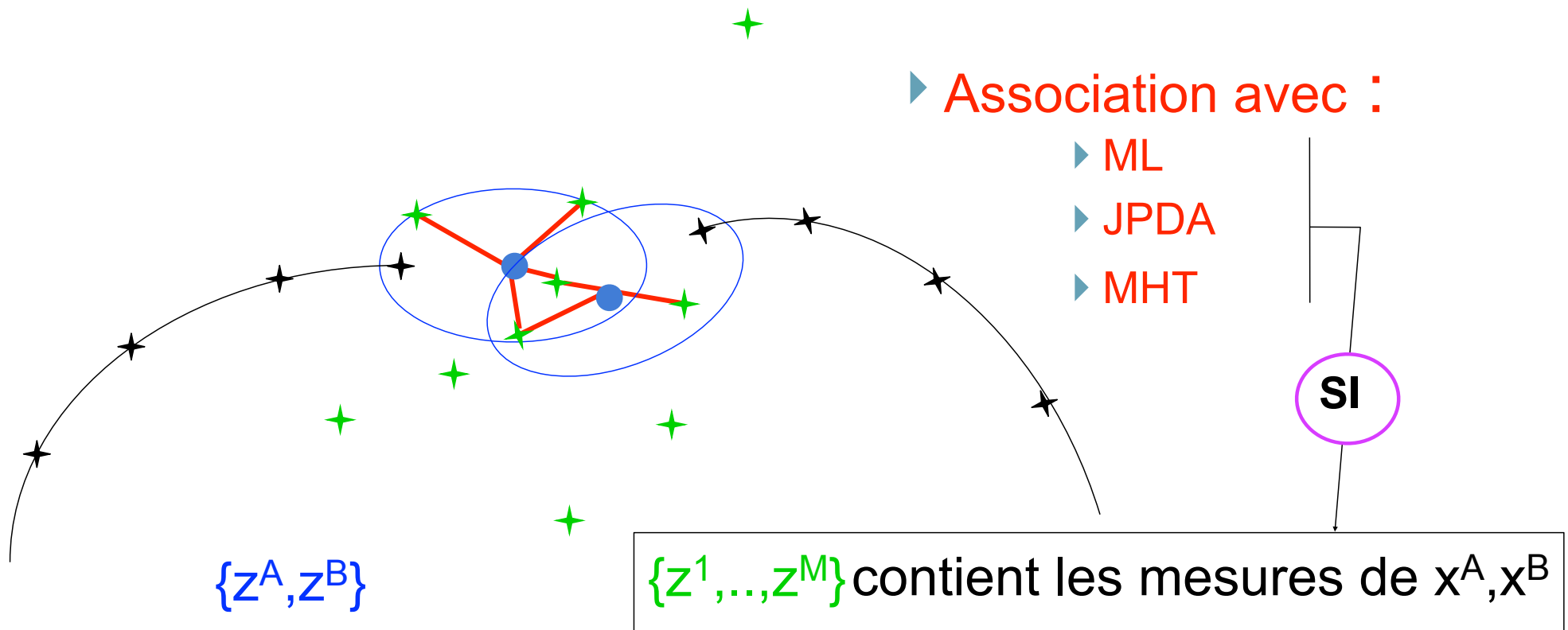


# Association

- ▶ Principe pour plusieurs objets (4 étapes)
  - prédiction, détection, association et estimation

- ▶ Association avec :

- ▶ ML
- ▶ JPDA
- ▶ MHT



# Association

## ► Tracking multi-objets en pratique

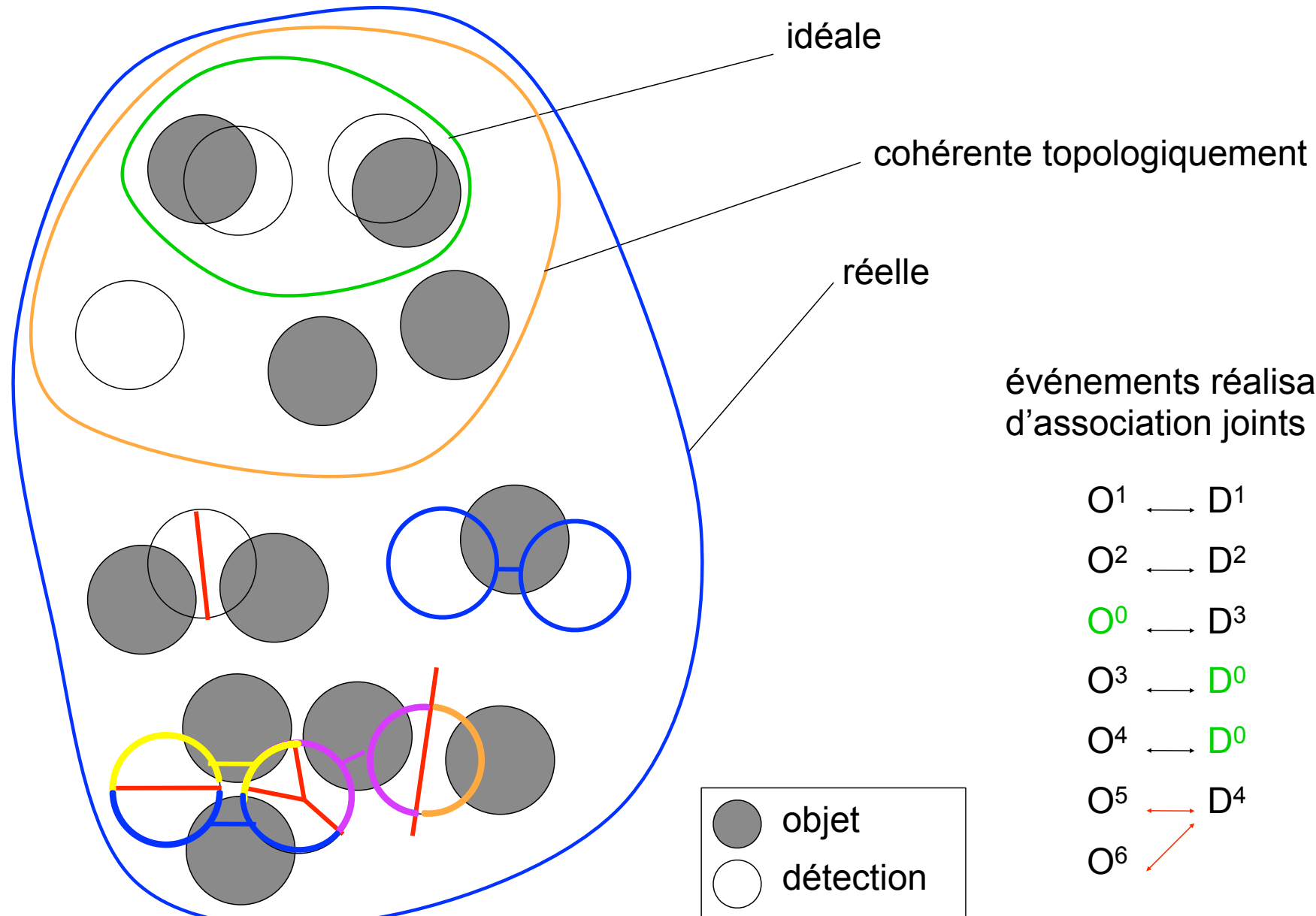
Toutes ces méthodes font  
l'hypothèse suivante :

- ML
- JPDA
- MHT
- ✓ une mesure est produite par un objet au plus
- ✓ un objet produit au plus une mesure

Dans la plupart des applications, ces hypothèses ne sont pas validées, conduisant à l'échec de ces méthodes

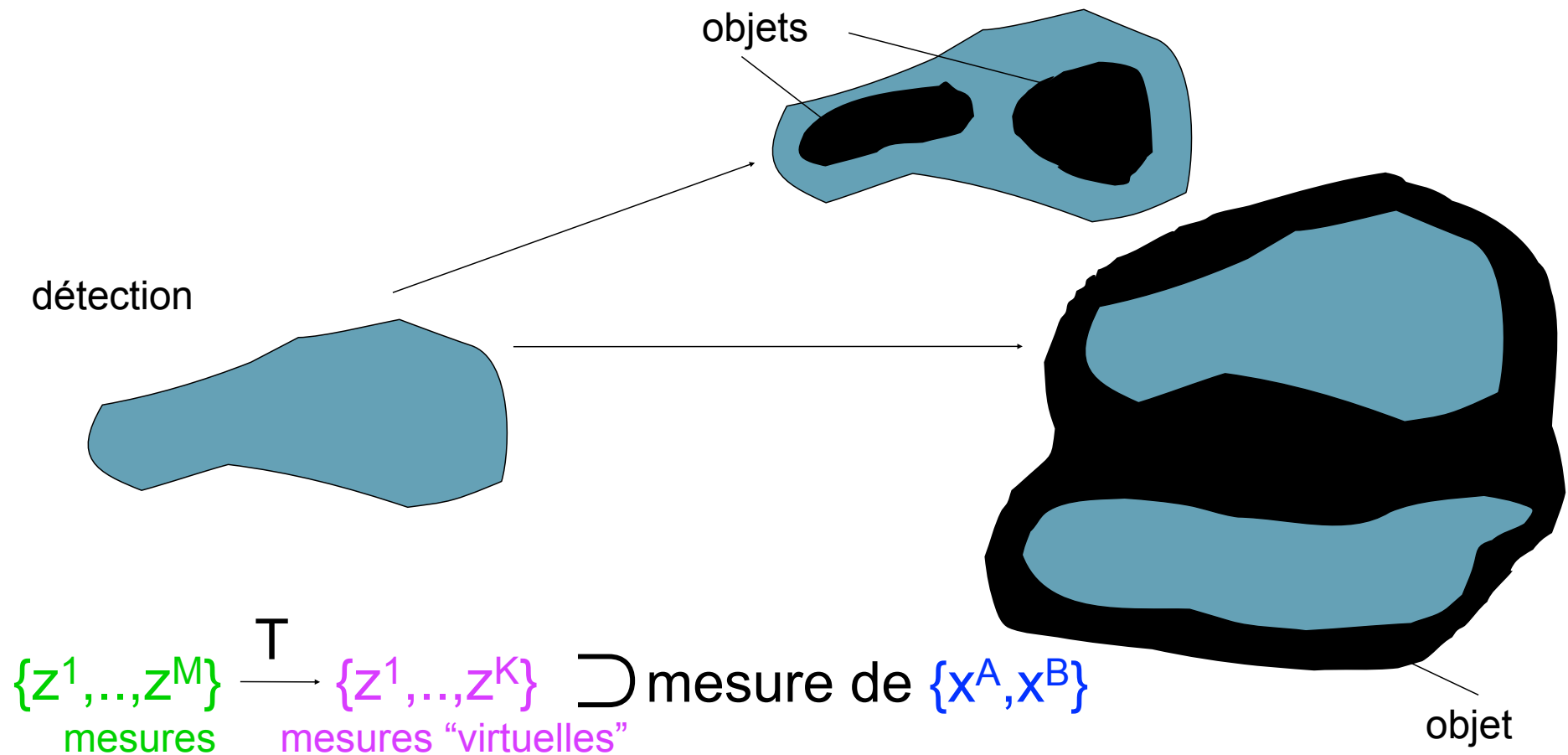


# Association

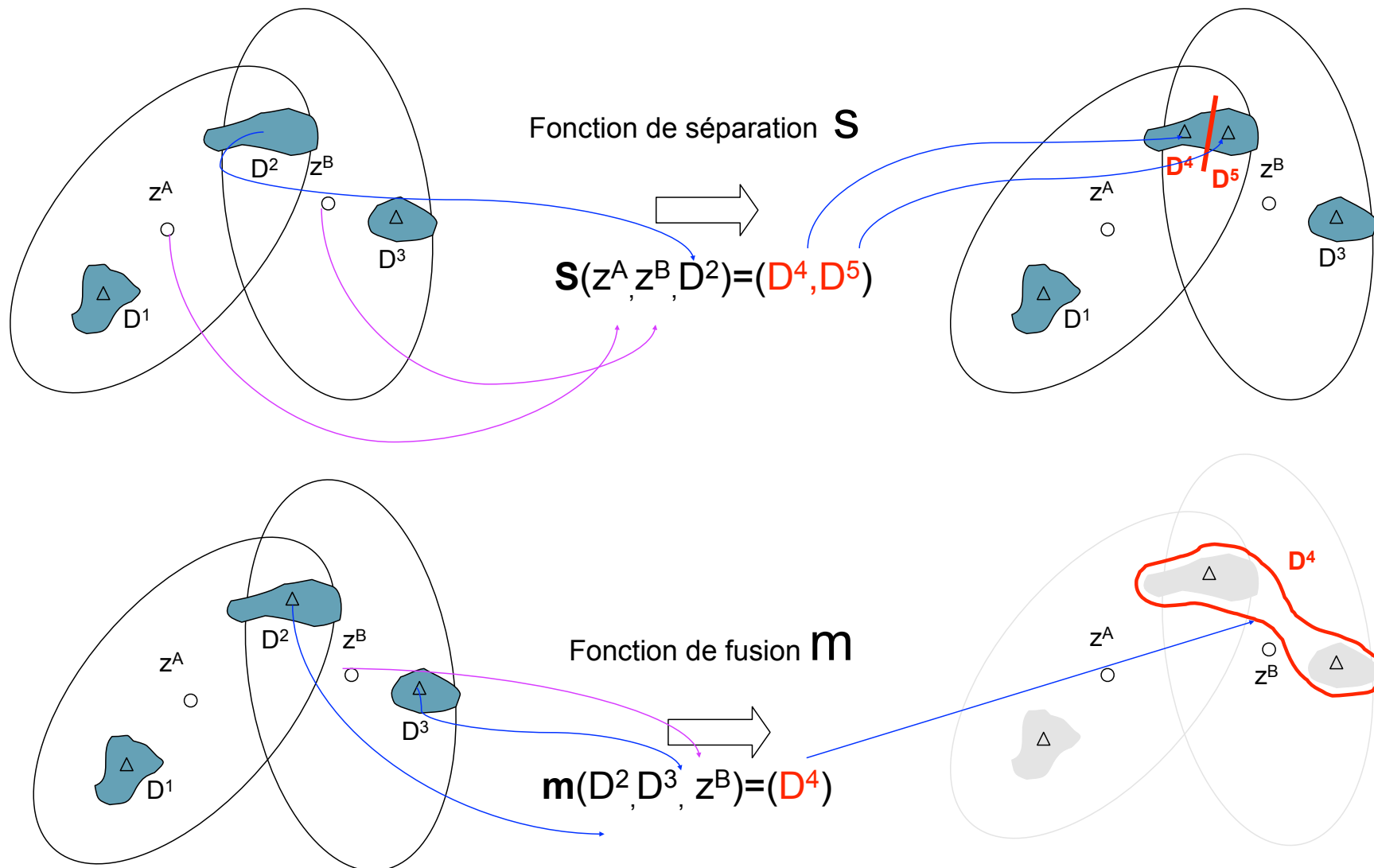


# Association

## ► Détection fusionnée et détection partielle

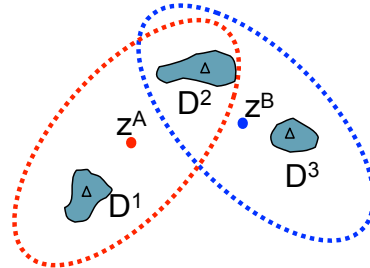


# Association séparation-fusion





# Association séparation-fusion



Séparation des détections conflictuelles

$$D^{j_{i_1}}, \dots, D^{j_{i_q}} = s_q(D^j, \mathbf{z}_{t/t-1}^{i_1}, \dots, \mathbf{z}_{t/t-1}^{i_q})$$

Détections non conflictuelles et séparées

$$E'_i = N_i \cup \bigcup_j D^{ji}$$

Toutes les fusions possibles pour i

$$Z'_i = \{ (m_q(e^j, \mathbf{z}_{t/t-1}^i)), e^j \in \mathcal{P}(E'_i) \}$$

Toutes les fusions possibles (ensemble des mesures virtuelles)  $Z' = \bigcup_i Z'_i$

$Z' \times \dots \times Z' \supset \Theta$  contient des “événements réalisables d’association joints” approximatés pour les  $x^1, \dots, x^N$

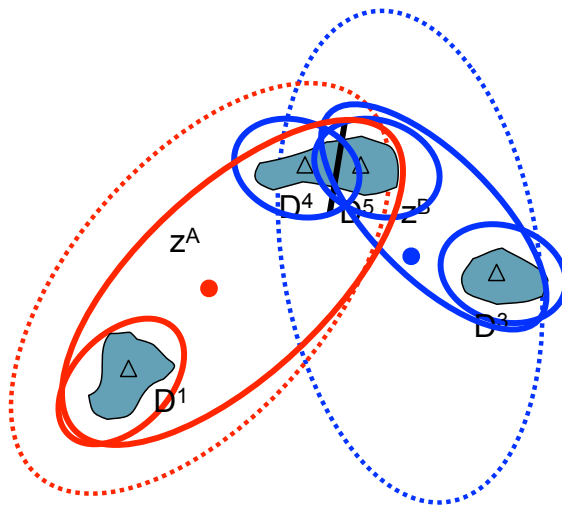
$$\theta^* = \arg \max_{\theta \in \Theta} P(\theta / \mathbf{Z}_{1:t})$$

[ dépend du choix de  $s(\cdot)$  et  $m(\cdot)$  ]

$$\theta^* = \arg \max_{\theta \in \Theta} \frac{1}{c} \frac{\phi!}{V^\phi} \prod_j (\Lambda_{i,j,j})^{\tau_j} \prod_i \left[ (P_D^i)^{\delta_i} (1 - P_D^i)^{1-\delta_i} \right]$$

# Association séparation-fusion

Évènement réalisable d'association joint  $\theta \in \Theta \subset Z' \times Z'$



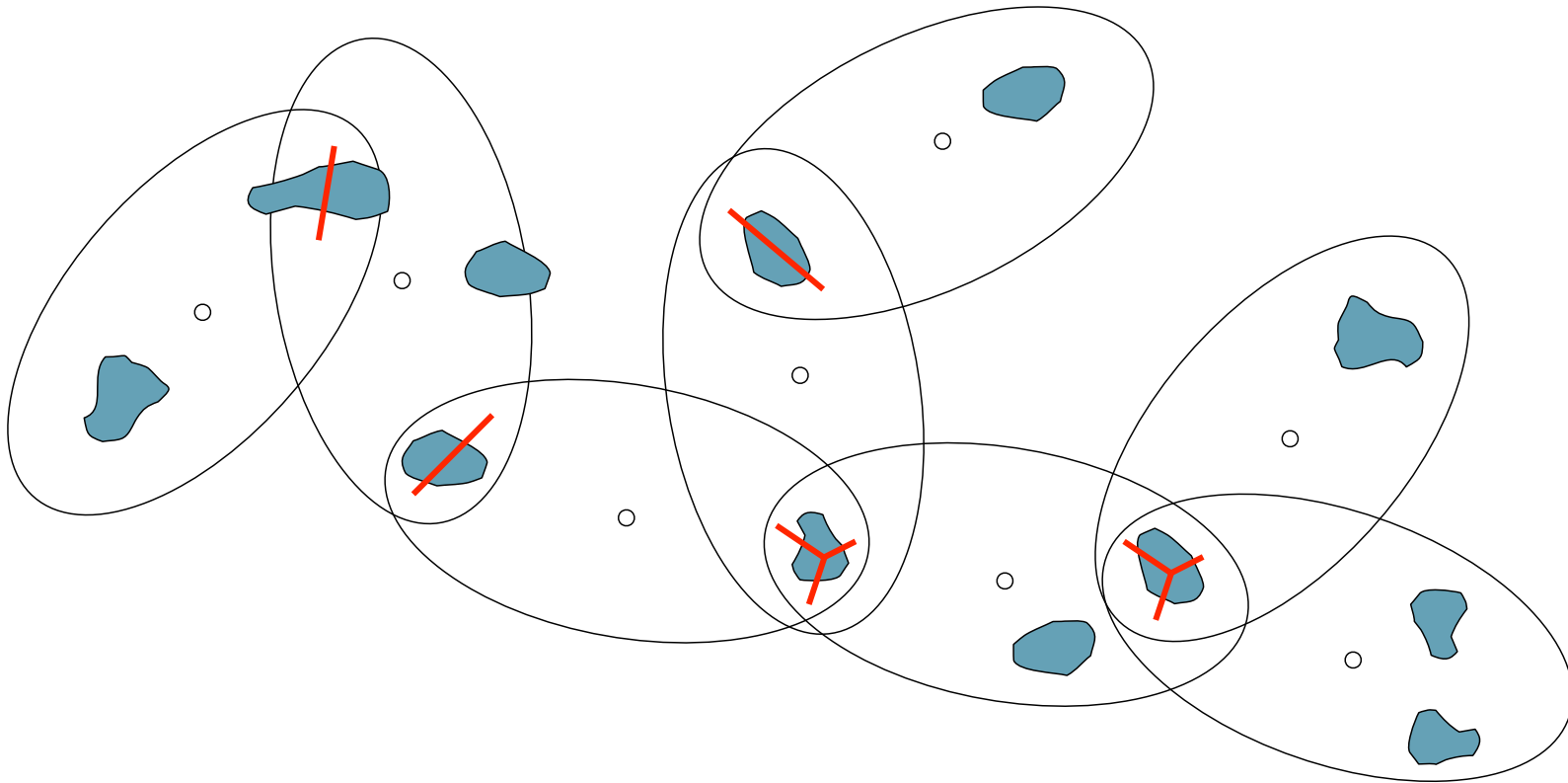
$$|Z' \times Z'| = 64$$

$$|\Theta| = 36$$

	$z^A$	$z^B$
$\theta_1$	$D^1$	$D^3$
$\theta_2$	$D^1$	$D^4$
$\theta_3$	$D^1$	$D^5$
$\theta_4$	$D^1$	$m(D^3, D^5)$
$\theta_5$	$D^1$	$m(D^3, D^4)$
..	..	..
$\theta_{36}$	$m(D^1, D^4, D^5)$	$\emptyset$

# Association séparation-fusion

## ► Complexité : implémentation « naïve »

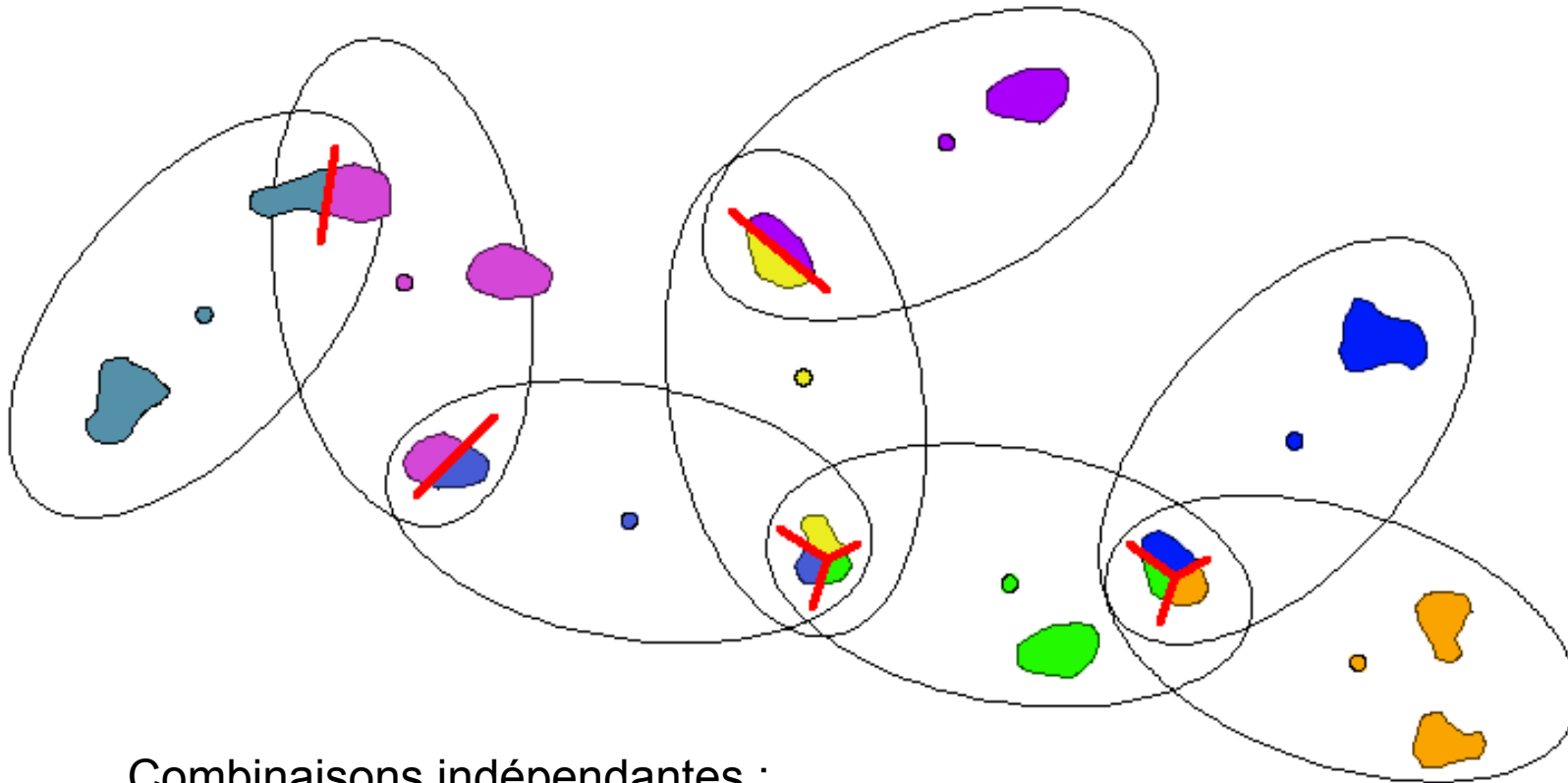


$$2^3 \times 2^5 \times 2^5 \times 2^5 \times 2^3 \times 2^7 \times 2^4 \times 2^5 = 2^{37} = 137.438.953.472$$



# Association séparation-fusion

- Complexité : implémentation « globale »

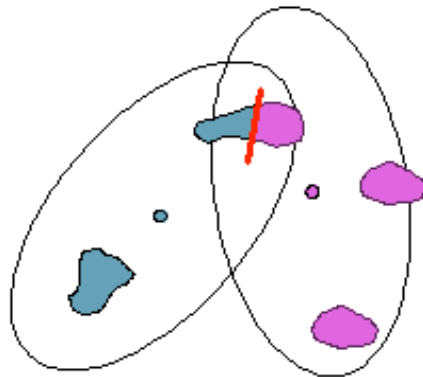


Combinaisons indépendantes :

$$2^2 + 2^3 + 2^2 + 2^2 + 2^2 + 2^3 + 2^2 + 2^3 = 44$$

# Association séparation-fusion

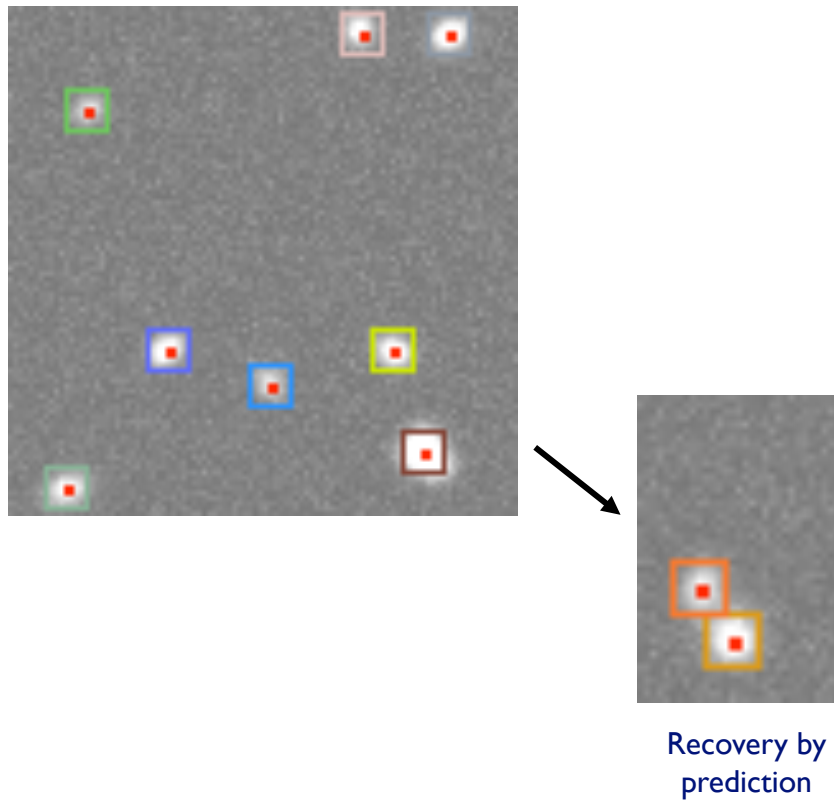
- Fonction de séparation  $s(.)$  : k-moyennes contraintes



- Fonction de fusion  $m(.)$  : union

# Spot Detection and Tracking

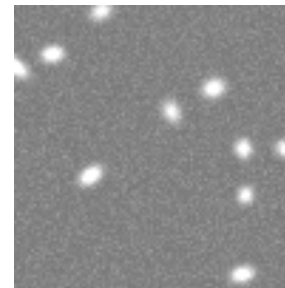
## Robustness to missing detections



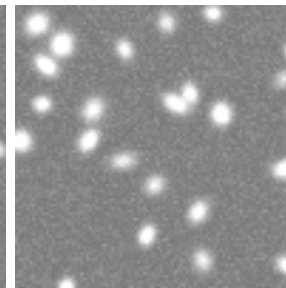
## Robustness to density

(100 x 100 x 50 sequences)

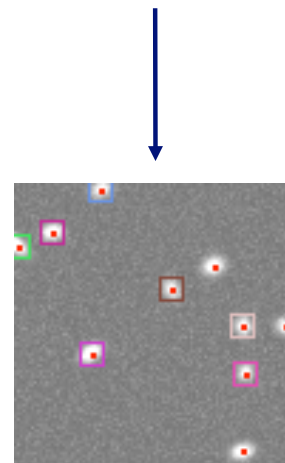
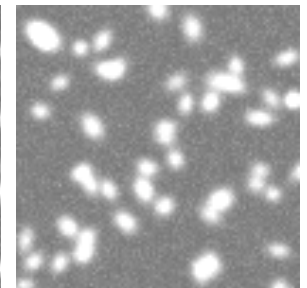
10 spots



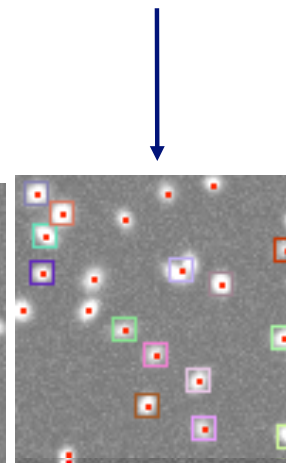
25 spots



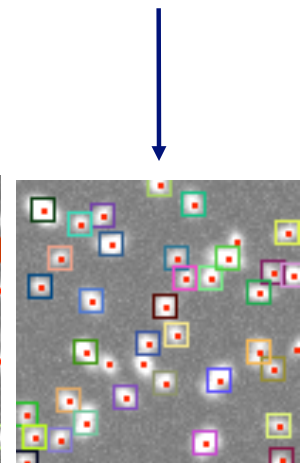
50 spots



97.5 %  
success



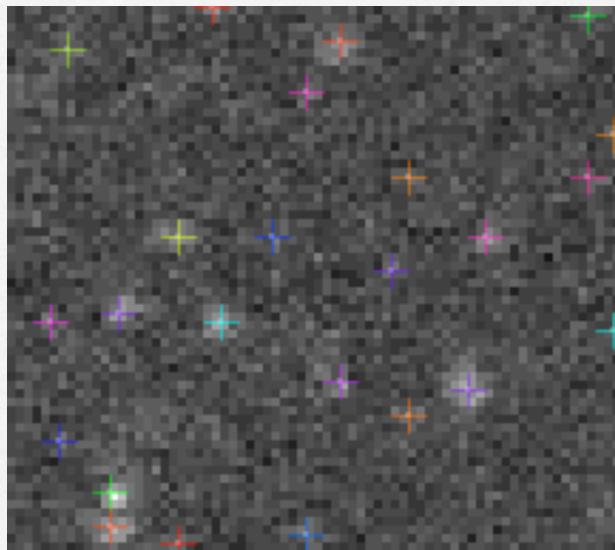
85 %  
success



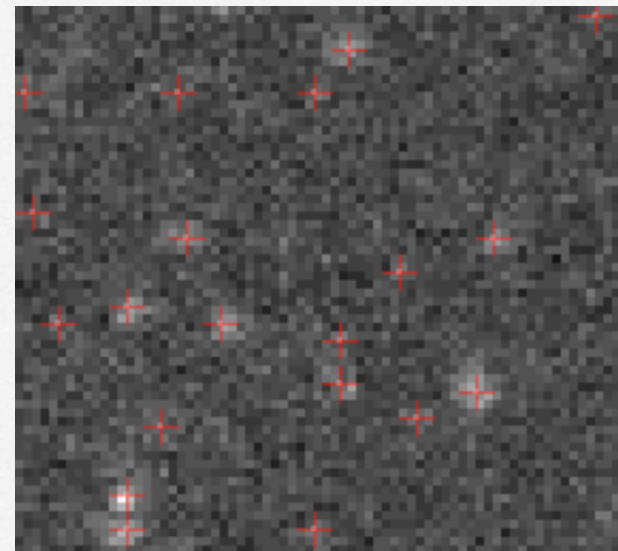
63 %  
success

# Limitations

## ■ Golgi units tracking in Hela cells



Instantaneous Maximum  
Likelihood (IML) tracking



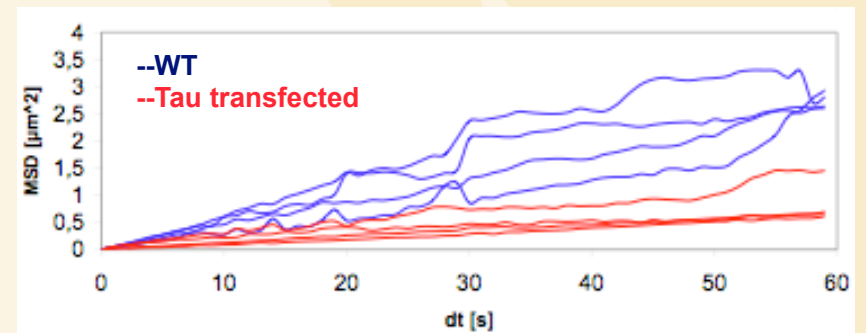
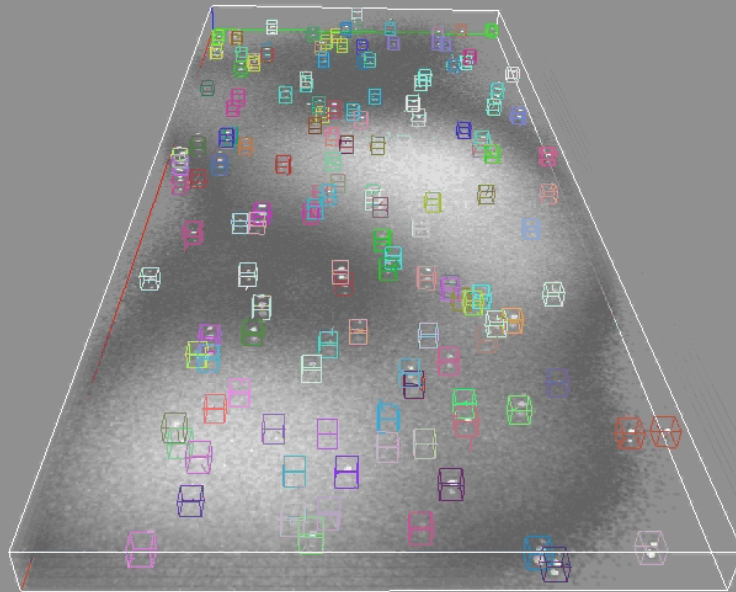
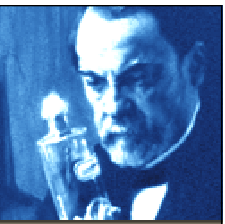
MHT  
prenant en compte le futur

N. Chenouard, PhD, 2009

Chenouard et al., Multiple Hypothesis Tracking for Cluttered Biological Image Sequences, PAMI 2013



# Application in 3D + t



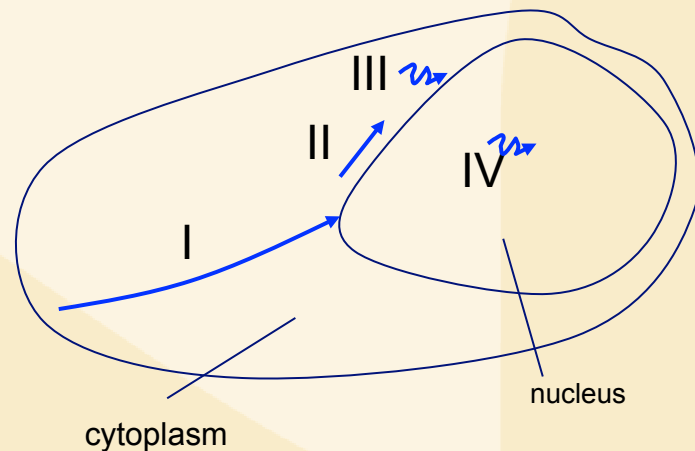
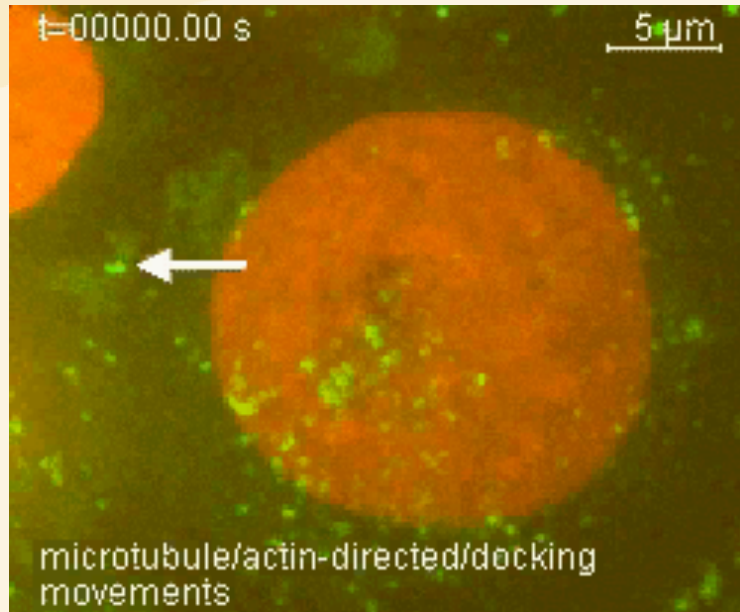
*Tau* reduces endosomes motility

A. Genovesio, V. Emiliani, W. Parack, M. Coppey, J.-C. Olivo-Marin, *IEEE Trans. Image Processing* (2006)

QDs particles motility in HeLa cells



# Application in 3D + t



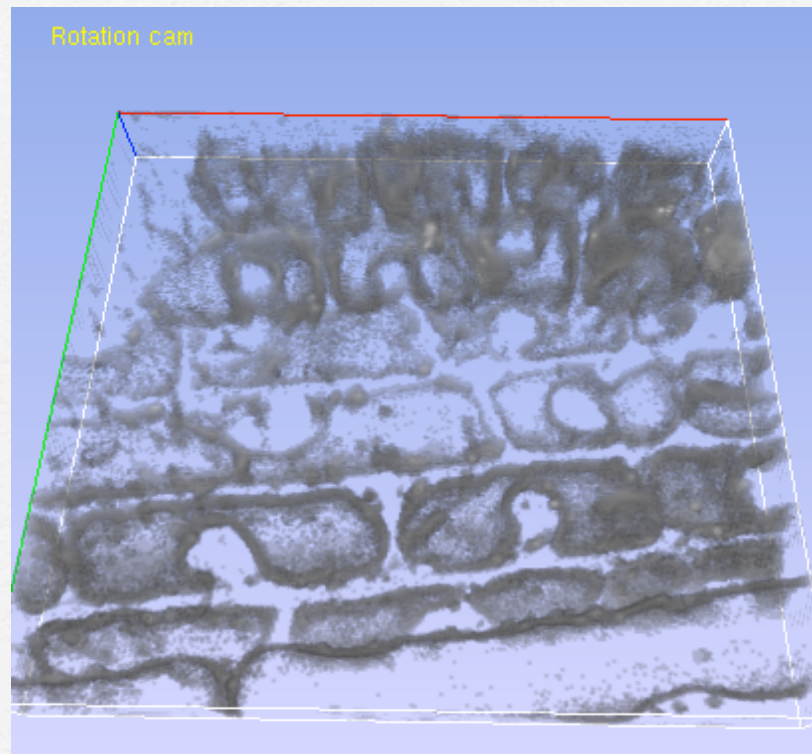
## HIV exhibits four types of movements

	Type	Velocity	3D tracks	Movement characteristics
Mouvement I	Microtubule-directed	peaks at 0.1 to 1 $\mu\text{m/s}$		Directed
Mouvement II	Actin-directed	under 0.03 $\mu\text{m/s}$		Directed
Mouvement III	Docking at the nuclear membrane	under 0.03 $\mu\text{m/s}^{**}$		Confined
Mouvement IV	Intranuclear movement	under 0.005 $\mu\text{m/s}^{**}$		Diffusive

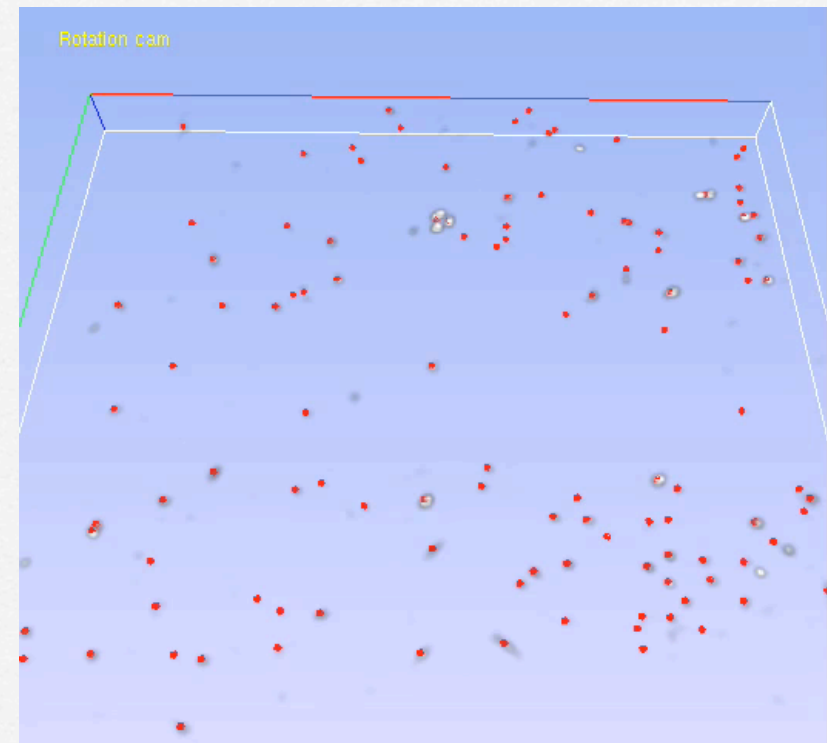
N. Arhel, A. Genovesio, J.-C. Olivo-Marin, S. Shorte, P. Charneau, *Nature Methods* (2006)

# Applications

## □ Tracking KOR1 compartments in plant cells



Original 3D movie.



Particles only movie after source separation and tracking.

\*Chenouard *et al.*, Morphological source separation for particle tracking in complex biological environments, ICPR, 2008.

\*Chenouard *et al.*, Particle tracking in fluorescent microscopy images improved by morphological source separation, ICIP 2009



# References

- Chenouard et al., Multiple Hypothesis Tracking for Cluttered Biological Image Sequences, PAMI 2013

# Many thanks to

The AIQ team:

- Jean-Christophe Olivo-Marin
- N. Chenouard
- A. Genovesio