

ISSN 0567-6576

Bulletin des Académie & Société Lorraines des Sciences

**ANCIENNE
SOCIÉTÉ DES SCIENCES DE NANCY**

fondée en 1828

**Etablissement d'utilité publique
(Décret ministériel du 26 avril 1968)**

BULLETIN TRIMESTRIEL

**TOME 31 NUMERO 2
1992**

AVIS AUX MEMBRES

COTISATIONS.

Les Membres des Académie & Société Lorraines des Sciences acquittent une cotisation annuelle. Celle-ci est fixée à 50 francs en 1988.

Le paiement de la cotisation ne donne pas droit au service du bulletin, mais permet de bénéficier d'un abonnement à tarif réduit. La remise accordée aux Membres des Académie & Société Lorraines des Sciences ne peut atteindre ou dépasser 50 % du prix de vente de la publication. Son taux, proposé par le Conseil, est ratifié en simple Assemblée générale annuelle (Statuts, Titre I, Art. III).

Tout règlement est à adresser, de préférence par chèque, à l'ordre du Trésorier de l'Académie & Société Lorraines des Sciences, Biologie végétale 1^{er} Cycle, BP 239, 54506 Vandœuvre Cédex.

Chèque bancaire ou chèque postal au compte 45 24 V Nancy.

BULLETIN.

La vente de la publication trimestrielle "Bulletin de l'Académie & Société Lorraines des Sciences" se fait par abonnement annuel.

TARIF 1988 :

Non-Membre de l'A.S.L.S. 110 francs

Membre à jour de cotisation 60 francs

Pour la vente exceptionnelle de numéros isolés ou anciens s'adresser au Trésorier ou au Secrétaire Général, 8, rue des Magnolias, Parc Jolimont-Trinité, 54220 Malzéville.

SEANCES.

Les réunions ont lieu le deuxième jeudi de chaque mois, sauf vacances ou fêtes tombant ce jour, à 17 heures, Salle d'Honneur de l'Université, 13, place Carnot à Nancy.

Afin d'assurer une parution régulière du Bulletin, les Membres ayant présenté une communication sont invités à remettre leur manuscrit en fin de séance au Secrétaire Général. A défaut, ces manuscrits seront envoyés à son adresse ci-dessus, dans les quinze jours suivant la séance. Passé ce délai, la publication sera ajournée à une date indéterminée.

(suite 3^e de couverture).

Le "Bulletin de l'Académie & Société Lorraines des Sciences" est notamment indexé par : Publications bibliographiques du CDST (Pascal), Académie des Sciences d'URSS, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Microbiology Abstracts C.

Bulletin des Académie et Société Lorraines des Sciences, 1992, 31, n° 2

B U L L E T I N

**de l'ACADEMIE et de la
SOCIETE LORRAINES DES SCIENCES**

(Ancienne Société des Sciences de Nancy)
(Fondée en 1828)

**BIBLIOTHEQUE INTERUNIVERSITAIRE DE NANCY
SECTION SCIENCES**

Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LÈS-NANCY
FRANCE

SOMMAIRE

MAUBEUGE P.L.	
Pollution chimique des nappes aquifères en Lorraine. (Quelques réflexions)	53
FORTHOFFER M. - GIROD J.P. - BREMONT J.	
Apport du réseau de neurones pour une détection de contours par transformée en ondelettes	65
MENU P. - FAIVRE B. - DELLACHERIE E. - LABRUDE P. et VIGNERON C.	
L'hémoglobine modifiée par le dextran-benzène-tétra-carboxylate : un substitut potentiel du sang ? Résultats préliminaires de l'évaluation physico-chimique et pharmacologique	81
RIVAIL J.L.	
La Modélisation Moléculaire	93
Procès-verbal : séance du 2 avril 1992	95

POLLUTION CHIMIQUE DES NAPPES AQUIFERES EN LORRAINE

(Quelques réflexions)

par

Pierre L. MAUBEUGE*

--:--:--

Il s'agit ici de réflexions et du rassemblement à titre de démonstrations, de données éparses dans des travaux antérieurs, plus ou moins accessibles, plus ou moins lus, sinon pas du tout. Ce qui conduit à réaliser l'effroyable engrenage des causalités, même par des voies purement naturelles, dès la moindre intervention humaine. Ceci relatif au problème général des pollutions des eaux.

Le sujet est d'une brûlante actualité en France. On reste ébahi et ravi qu'un Ministre ait osé prendre une position catégorique en ce qui concerne la réalité des pollutions touchant l'Agriculture. C'est aussi ébahissant que si un Ministre de la Santé, malgré les planteurs de tabac et l'industrie d'Etat à buts tabagiques qu'est la SEITA, osait tonner, réclamer des mesures concrètes contre l'exploitation officielle de la tabagie. Et reconnaître aussi que le tabac est une drogue (au même titre que d'autres), élément d'une catastrophe nationale quant à la santé et opération économique lamentable vu, in fine, le coût de cette tabagie au budget national de la santé, sans compter les drames et misères physiologiques sur le plan humain.

Ainsi donc les Français, la plupart étonnés, apprennent que l'Agriculture devient un facteur catastrophique face à l'apport des nitrates et leur concentration dans les cours d'eau. Or il n'y a pas les cours d'eau. Il y a les nappes et la mise en cause d'autres polluants dont on ne parle pas.

Je souhaite simplement souligner certains mécanismes que l'on cèle avec cependant des faits réels et prouvés.

(*) Note présentée à la séance du 05 avril 1990.

NITRATES, CHLORURES et FLUOR.

Je n'ai aucune intention vaniteuse de revendiquer une gloire, d'avoir le premier dénoncé les dangers des engrais agricoles. Mais nous étions quelques-uns confrontés à des problèmes pratiques, à découvrir simultanément, il y a une trentaine d'années, qu'un phénomène se développait dans nos régions et ailleurs.

A titre personnel j'étudiais en permanence l'hydrologie des mines de fer sur plusieurs milliers de kilomètres carrés. S'agissant d'un réservoir aquifère carbonaté, les données sont parfaitement transposables pour d'autres régions lorraines partout où il y a un réservoir calcaire. C'est le cas de l'auréole du Muschelkalk dans le Trias également très agricole. La nappe des Grès rhétiens peut-être polluée plus insidieusement. Celle, très importante, la plus grosse réserve d'eau (fort surexploitée) des Grès du trias, vu la vitesse lente de circulation appelant des millénaires pour aboutir à l'extrémité la plus ennoyée et aux eaux déjà fort minéralisées naturellement, est aussi vulnérable. Pourtant la zone d'alimentation vers les reliefs vosgiens ou la Sarre est surtout couverte de forêts. Mais, vers la Sarre, il y a de redoutables pollutions chimiques et par ailleurs on sous-estime énormément le phénomène de drainance. Celui-ci conduit, surtout sur la zone marginale, à faibles distances des affleurements, à des appels verticaux. A propos du fluor je donnerai, in fine, un exemple précis de ce qu'est la drainance, parlant de la Woëvre, en tous autres terrains. Mais le phénomène existe. Ainsi, à de faibles profondeurs, un forage aux Grès, objet de pompages intensifs, à faible distance des affleurements, avec couverture d'autres terrains, en partie imperméable, peu bel et bien mêler des appels verticaux infimes à la venue de la nappe elle-même. Une lente percolation se fait même avec des terrains réputés imperméables ; à cause du cône de rabattement considérable menant à une succion-drainage généralisée autour du forage, cela sur des hectares, gagnant vers le haut. Le chimisme de l'eau peut ainsi évoluer. Ainsi, certains forages aux Grès du Trias sont salés à l'influence du Keuper superposé et affleurant.

Dans la frange d'affleurements gréseux la drainance est, bien entendu, un phénomène quasi-normal autour d'un forage, malgré quelques petits niveaux imperméables à diverses hauteurs. C'est par ce phénomène que l'on a vu, par suite d'une effroyable surexploitation de la nappe par les Industries Chimiques des Houillères nationales en Lorraine, se "volatiliser" littéralement un étang tel celui de St. Avold. Il remontait à la nuit des temps, avec un autre voisin menacé. Cet étang d'Oderfang avait 300 hectares en eau. Il a disparu il y a un bon quart de siècle ; comment pouvait-il en être autrement quand on sait que les industries de la houille, feignant la candeur

innocente avec recherches d'explications invraisemblables, tiraient annuellement par sondages plus qu'il ne tombait d'eau dans la région ? Même la forêt domaniale, au dire des fonctionnaires et gestionnaires responsables, subissait les effets du soutirage sur l'imbibition des terrains enracinés.

Qui oserait dire que de tels appels n'entraînent pas tout vers les nappes, quelle que soit la motivation de présence, avec une possibilité de solubilisation ou d'entraînement en profondeur vers des nappes à régime dynamique ? Pendant ce temps, par exemple, les foules ameutées clament que "leur" sous-sol ne sera pas une poubelle. Silence de mort là où des phénomènes insidieux graves existent. Hurlements et quasi-révolte, par principe, quand on parle de déposer en conditions absolument contrôlées, dans un vide connu et maîtrisé, des dépôts dangereux en surface. Il faut bien me comprendre : je dis que sur le plan théorique le vide dans le sel est l'endroit idéal pour des stockages. Mais la faisabilité et la sécurité, cas par cas, sont tout autre problème. De même quand on voulait mettre, secteur de Toul, des dissolutions chimiques dans une nappe déjà sursalée avec ions divers, "le sous-sol du toulinois ne serait pas une poubelle". Divine bêtise et foules téléguidées, obtuses, avec incapacité congénitale inguérissable de comprendre qu'il y a des eaux douces et des eaux très minéralisées et sursalées dans le sous-sol, aux mêmes horizons géologiques avec limite sur des méridiens plus à l'Est : On est en face d'une nappe fossile envahie par les eaux douces venues de l'Est. Dès lors, quelle importance de remettre dans le sous-sol des chlorures de calcium et de sodium alors qu'ils y existent déjà ; et même vu que le chlorure de sodium y forme d'énormes amas, certes plus haut que les Grès ?

Je n'ai jamais vu asséner aux opposants que chlorures et sulfates sont déjà des corps naturels existant dans le sous-sol. En quoi donc y a-t-il une logique avec l'argument démagogique de la "poubelle souterraine" ? Les mêmes foules exigent des routes salées en hiver pour leur déesse voiture mais refusent de considérer la catastrophique salure (NaCl) des nappes qui en découle. La chose est cependant archidémontrée et certains pays refusent de saler les routes. La Suisse avait la première réagi à ce propos devant l'état de ses nappes d'eau.

Dans les années 60 je découvrais donc, comme d'autres, que l'importante nappe aquifère soutirée par les mines de fer, et hautement utilisée pour les industries et surtout pour l'alimentation humaine, présentait des problèmes chimiques. Les nitrates apparaissaient. Certains secteurs du Pays Haut, très agricoles au dessus des mines exploitées : par exemple l'immense domaine de St. Pierremont un peu au NE. de Briey avec, en dessous, la mine de St. Pierremont. La tranche supérieure des terrains est essentiellement calcaire et perméable. L'effet de drainance est d'ailleurs évident - bien que les mines de fer n'aient

jamais excédé 200 mètres de profondeur - que le Pays Haut a vu progressivement avec l'avancement des mines et l'augmentation parfois phénoménale de leur exhaure (certaines tiraient bien plus que dix fois le tonnage du minerai en eau pompée) une inquiétante situation se développer. Les sources se tarissaient, les cours d'eau perdaient une importante partie de leur débit (sinon la totalité en été, seul le rejet des mines le soutenant) et les puits eux aussi s'asséchaient. Des petits cours d'eau jadis à truites, comme le Conroy ou le Woigot, prenaient triste figure, sans compter une mission de cloaque pour ce dernier, liée à l'urbanisation. Symétriquement l'arrêt des mines a fait réapparaître des sources. Celle (résurgence) de la Bouillante à Dieulouard (M. & M.) s'est mise ainsi à couler de nouveau, quelques années après noyage de la mine.

Signalant les faits en Commission de géologie des Mines de Fer, puis Commission d'hydrologie satellite, je rencontrais une attention polie et même des soutiens de gens sachant que le problème existait, quand je soulignais l'envahissement par les nitrates. Nous avions en effet représentation mixte avec divers services s'occupant de l'eau, telle l'alors dénommée Agence Financière de Bassin Rhin-Meuse, le Service Régional d'Aménagement des Eaux du Génie Rural et autres services.

CYANURES.

Les comptes rendus officiels existent concernant un cas qui a été bien souvent évoqué.

Les normes officielles interdisent strictement la moindre présence d'ions cyanures dans les eaux potables. Or, durant fort longtemps, lorsque je suivais ces questions, une commune au voisinage de l'Orne délivrait une eau renfermant des cyanures chimiquement détectables. Les populations devaient être saines et résistantes, sinon mithridatisées aux cyanures ! Il n'y avait d'ailleurs pas d'autres solutions économiques ; mais la santé publique a-t-elle un prix dans nos pays ? Cause du phénomène : on avait déversé longtemps dans une vieille carrière exploitant l'Oolithe de Jaumont les résidus d'une usine à gaz dont le produit d'épuration est riche en cyanures. Pour ralentir les infiltrations on a essayé d'imperméabiliser la surface. Mais si les voies du Seigneur sont impénétrables, les voies de la non-pollution chimique le sont parfois tout autant ; elles le sont quand on occulte sciemment.

Tout autre cas de pollution (même région). Malgré les procès-verbaux répétés de la Gendarmerie pour infractions et pollutions prouvées, le Procureur de la République aboutissait à un non-lieu, la Préfecture intervenant officiellement au titre de l'autorité centrale. Il n'y avait plus, dès lors, de pollution. Le captage ne pouvait être ni déplacé ni remplacé.

HYDROCARBURES et AUTOSTRADES

On a pareillement voulu, dans la vallée de la Moselle, préserver des zones alluviales en empêchant même l'exploitation en sablières aux propriétaires de terrains, furieux ; ceci pour extension de captages. On oubliait - ce qui est maintenant une évidence - dans ce même secteur entre Nancy et Pont-à-Mousson, pour ne pas le nommer, que les cultures environnantes que l'on ne peut empêcher, envoient des nitrates à jets continus. Il y eut des procès mémorables.

Une autostrade, administrativement, n'est pas polluante. Elle s'imposait. C'était elle ou, à défaut de 60 kilomètres d'un utopique tunnel autoroutier Nancy-Metz, une liaison aérienne. On imagine, outre les accidents, les égoutages continus liés au trafic. Plus beau encore : les stations services concédées par l'Etat avec citernes et plusieurs cas de fuites considérables. Comment s'étonner alors que des traces d'hydrocarbures soient décelables dans les nappes alluviales de la Moselle ? La plus colossale et légale hypocrisie que j'aie dénoncée et qui m'a valu des inimitiés quasi-mortelles concerne le périmètre de certains captages vers Pont-à-Mousson. Si ce périmètre avait été scientifique et logique il ne devait pas grotesquement suivre le bord d'une autostrade mais aller bien au delà et faire interdire cette autostrade.

Mais qui n'a vu, au Sud de Metz, un autre cas délicieux : les têtes de captage dans une bretelle autoroutière conduisant à Verdun via Rozerieulles qui sont encastrées dans le remblai de l'autoroute. Il ne pouvait passer que là. Mais l'eau devait, en toute obligation logique, être recherchée ailleurs, quel qu'en soit le coût, y compris une colossale adduction pour toute une partie de la Lorraine, partant de retenue vosgienne. C'était une solution éventuelle. On comprend alors qu'il y ait du plomb tétraéthyle et des hydrocarbures dans l'eau. Il faut savoir cependant que des épis de maïs abandonnés peuvent engendrer des hydrocarbures naturels dans l'eau.

On concevra qu'il était logique de s'interroger sur la présence du plomb tétraéthyle dans les eaux d'emploi humain. Je l'ai fait. Dans un cas une brasserie m'ayant pris au sérieux et écouté, au sujet d'un aquifère distinct de celui des alluvions de Moselle, mais affecté par un énorme trafic sur routes nationales à quatre voies, a fait doser le plomb tétraéthyle. Affolée l'a vu constaté à l'état de traces identifiables. Depuis, ces gens parfaitement responsables, ont, malgré leurs problèmes, immédiatement arrêté la prise. Et un célèbre label relatif à un produit brassé avec l'eau pure des sources d'un vallon a modifié sa publicité. Est désormais utilisée l'eau d'un réseau urbain, mais en parlant de sources plus poétiques. Est-ce simple mention commerciale ou est-on revenu aux griffons de "sources"

qui sont en fait des résurgences karstiques ? Je l'ignore.

Mais on admet que la Moselle (ce qui concerne aussi les utilisateurs de l'eau livrée dans la région nancéienne) ayant des villes comme Epinal et Charmes très en amont, le pouvoir épurateur a joué. Et des résidus d'égouts déversés, tels ceux d'un centre médical de soins de poliomyélitiques comme Flavigny à quelques kilomètres des captages de Nancy ; Dame Nature a donc tout arrangé. Les analyses biologiques et chimiques légales sont certes correctes ; mais il y a tout ce que la loi n'oblige pas à doser et la pensée qu'il y a bien, quand même, quelques molécules d'eau qui ont transité par un égout avec ou sans station d'épuration...

On me dira se rabattre sur les eaux minérales. Glissons pudiquement sur les problèmes de la nappe maintenant surexploitée dite des eaux minérales du bassin de Vittel avec les phénomènes de drainances, cultures et pollutions diverses de surface. Et là, existe un phénomène curieux que je soulignerai. Fort heureusement ce n'est pas moi qui l'ai écrit mais les exploitants de la source. La plaquette datant d'avant la dernière guerre mondiale, la société des eaux de Vittel énonce on ne peut plus clairement et loyalement que la fameuse source Hépar, gazeuse, révèle... des traces d'hydrocarbures gazeux (0,754 cm³ de gaz combustible au litre dont on n'a pas d'analyse détaillée). Pour moi rien d'étonnant : la source sort des terrains de la Lettenkohle qui, pas tellement loin de là, est le réservoir pétrolier du niveau supérieur du champ pétrolifère de Forcelles. La Lettenkohle de Vittel est-elle en fin de lessivage en tant qu'ex-réservoir pétrolier ? En tout cas il s'agit là de faits absolument naturels. On a fait récemment un tapage pour les eaux Perrier, avec des traces d'hydrocarbures bien moindres. J'ignore s'il y avait accident ou si, par hasard (j'en doute d'ailleurs), on a découvert un phénomène naturel jusque là ignoré.

Pour en revenir aux nitrates à propos desquels je dénonçais les méfaits de l'agriculture il y a trente ans, j'ai évoqué le sujet et les hydrocarbures indisposant fort, il y a bien une dizaine d'années. Flatté et fort étonné, j'avais un beau jour reçu de la Préfecture de M. & M. une lettre me reconnaissant comme personne "compétente, qualifiée" pour participer à une commission départementale de l'environnement. Elle siégea plusieurs années. Puis je n'entendis plus parler de rien, à moins qu'on ait simplement omis, un jour, de me convoquer. Je ne m'en suis jamais préoccupé. J'ai néanmoins le souvenir très net de m'être levé, un sous-Préfet assis à ma droite, et d'avoir très nettement et textuellement déclaré que "nos amis agriculteurs, sans s'en rendre compte, sont plus pollueurs que les industries" ; d'où mouvements divers dans l'auditoire. Encore n'avais-je pas évoqué la question de savoir si l'industrie d'Etat de l'Office National de l'Azote, tel le monopole des tabacs,

existait encore et participait aux engrais nitrés. Il avait été créé en temps de guerre pour les explosifs nitrés.

J'ai annoncé des faits précis dans une phénoménologie naturelle. Il faut quand même y venir d'autant qu'il s'agit ici de quelques simples réflexions que je livre.

Pour les nitrates j'ai dit souvent et répété, dont une fameuse fois en public à la Préfecture, que l'on utilisait un marteau pilon pour écraser une mouche afin de satisfaire à l'agriculture intensive. En fait on ne sait strictement pas les quantités exactes judicieuses d'engrais à employer, les périodes très précises face à la climatologie réelle etc...etc... Quels beaux sujets d'études expérimentales universitaires plutôt que des sujets singuliers ou compilations au nom de la recherche fondamentale, libre et spontanée.

On sait, pour fixer les idées, que le maïs auquel s'adonne maintenant l'agriculture française impose 50.000 m³ d'eau par an à l'hectare ; il faut bien tirer sur les nappes ou les rivières, en attendant d'indemniser des pertes de récoltes à raison de catastrophes naturelles, dites sécheresses, et administrativement classées comme telles. Ces pompages ne sont pas sans importance. Mais il faut 89 kilos de nitrates à l'hectare (question à laquelle personne ne peut répondre : combien sont assimilés, combien vont dans le sous-sol ?), soit 50 % de plus depuis 1980. Et on s'étonne du problème des phosphates dans les rivières vu le tout à l'égout et les lessives. Mais on oublie que ces phosphates peuvent aller directement aussi dans les nappes des plateaux calcaires. On devrait bien doser les phosphates de certaines adductions d'eau, pour information, bien que non obligatoire légalement..

LES RESIDUS AGRICOLES.

Les lisiers dont l'élevage agricole intensif est de plus en plus embarrassé et dont l'épandage en surface est le seul exutoire, posent un sérieux problème de pollutions bactériologiques et chimiques ; ceci du fait d'un apport concentré que le pouvoir épurateur des sols est incapable de subir massivement. L'apport chimique, lui, est difficilement réparable par la nature (les lisiers apportent en général plus de 50 mg/litre de nitrates). On sait que les nitrates semblent - et les normes reposent là-dessus - ne pas poser de problèmes aux adultes, mais uniquement aux bébés en raison de la formation dans leur système digestif des fameuses nitrosamines. On peut certes sursauter et exprimer un dégoût face à ce qui se passe dans les eaux utilisées. Mais on oublie peut-être par là aussi que longtemps les plus succulents légumes et fruits, sinon encore en partie maintenant, résultent de l'assimilation par les végétaux de fumier et autres produits d'épandage peu ragoûtants. Les molécules

entrent dans de nouvelles combinaisons. Toutefois, pour l'eau, il y a les innombrables molécules de pesticides (sens large) régulièrement non dosés en tant que microtraces par les analyses légales. Et en toute honnêteté l'eau est déclarée conforme aux analyses. Il y a pourtant des problèmes et arrières pensées à avoir. Quand aux sursauts physiologiques, si, on le sait, les cosmonautes recyclent leur sueur et leur urine pour disposer d'eau de boisson, ce sont leurs liquides. Mais on est conduit à se cabrer en pensant que dans l'eau d'un réseau il a pu y avoir l'eau recyclée des autres contemporains dans les molécules ingurgitées.

EAUX MINERALES ET AUTRES EAUX.

Quant aux eaux minérales, leurs sources sont surexploitées excitant la drainance et ce fait constitue, dans certains cas, des problèmes évidents. On a, tous ces derniers mois, lu des entrefilets dans la presse. Selon ceux-ci des maires et conseillers généraux vosgiens ont réalisé une curieuse expérience, suggérée par des techniciens initiés. De l'eau minérale lorraine, versée dans un flacon soumise ensuite à l'analyse officielle, sans étiquette commerciale, était reconnue impropre bactériologiquement à la consommation. Les techniciens en connaissent les raisons. Certains, plus âgés, ont gardé souvenir dans un cas précis du Bassin des eaux de Vittel où une source exploitée par une société distincte alors de la concentration commerciale actuelle (je n'ai pas parlé de source précise mais de bassin) avait été fermée d'autorité par les contrôles militaires allemands d'occupation. L'eau était jusque là servie aux militaires allemands convalescents. La cause en était évidente : des dépôts d'ordures (pourtant modestes à l'époque) contaminant une vallée du Muschelkalk où était implanté, non loin, un captage d'exploitation.

Rappelons aussi que dans les Vosges, dans le secteur d'une source thermale chaude avait été très régulièrement autorisée l'exploitation d'une "eau de table" au sens de la loi. Fermant quelques années plus tard cette exploitation de source, une énorme pollution biologique fut découverte. En contre haut, sur les Grès, purin de ferme et maisons contaminaient allégrement la nappe.

On a vu pour des eaux non minérales des cas aussi effarants en divers endroits. Je rappellerai qu'il a régné longtemps aux portes de Briey un dépôt d'ordures autorisé dans la carrière du virage de Valleroy, en bordure du Rawé, vallée riche en phénomènes karstiques ; directement dessous il y a la réserve d'eau de 4 millions de mètres cubes à buts utilitaires de la mine noyée de Valleroy. Sur le plateau d'Aumetz, mêmes problèmes de mines captant l'eau à l'aplomb de la plus perméable Oolithe de Jaumont, cette fois avec plusieurs rejets focalisés de stations d'épuration plus ou moins - voire totalement - inefficaces avec infiltration visible dans le sol

d'eaux d'aspect plus que répugnant. Les liaisons colorimétriques ont été prouvées par mes soins et, vu les vitesses de circulation par descensus, il n'y a guère le temps pour l'auto-épuration ; sans compter les pesticides (sens large) qui ne peuvent disparaître. Les estomacs humains, solides, reçoivent très bien cela. A moins que certaines maladies ne s'expliquent tout simplement par là, sans mise en évidence de causalité.

Je soulignerai le plus admirable cas, si l'on peut dire, découvert lors de mes investigations pionnières sur le réseau karstique de l'Aroffe. Un chef-lieu de canton envoyait alors gaillardement ses eaux usées, non épurées, dans le réseau karstique. A très courte distance en aval, liaison colorimétrique établie par moi, un forage, sur une autre commune, partageait généreusement l'eau avec ce chef-lieu de canton. Eau jusque là non traitée, en toute quiétude. Il y avait ainsi un cycle au moins partiel de consommation et rejet, digne des cosmonautes, mais cette fois dans un fraternel partage collectif entre populations. Moralité : quand, candide incorrigible, je vins discrètement avertir le conseiller général, maire du cru, en l'occurrence une sémillante dame, loin de la voir reconnaissante tenter de me faire décerner le Mérite Agricole, je m'en fis une personne fort obstinée dans ses vindictes personnelles. On connaît bien la chanson: le témoin a dit la vérité, il doit être exécuté... Parallèlement pensons aux tracasseries et obligations administratives avec rapporteur obligatoire rémunéré à la clé, de qui veut bâtir maison sans branchement d'égout et simple fosse septique !

Il ne s'agit, ici, que de réflexions et exemples exposés selon un plan décousu. Relevons avec des motifs à réflexions précis la complexité des faits naturels sur le thème de "nous sommes tous des assassins", agriculteurs inclus à côté des industries et des agglomérations urbaines. Car, jadis, dans les villages et petites cités, avant le tout à l'égout si simplificateur (que les riverains en aval du cours d'eau se débrouillent a ainsi été la règle), le fumier rural existait. Certes il polluait trop souvent les puits voisins mais la couche de terre végétale, recevant l'engrais animal et humain, était, bien plus que le tout à l'égout, en quelque sorte en bout de cycle, une solution plus économique et naturelle.

La complexité naturelle des faits ressort du cas suivant :

Dans les années 50 nous procédions à une campagne de forages pour l'extension du bassin ferrifère en Woëvre et sous les Hauts de Meuse. Le forage de Hermeville donnait une eau artésienne de la nappe de base du Bajocien (analyses chimiques excellentes). Nous abandonnâmes l'ouvrage au Génie Rural d'où adduction d'eau sectorielle. Une vingtaine d'années plus tard : catastrophe avec la découverte d'une effroyable épidémie dentaire de fluorose sur une génération. Avec Gérard JECKO, sur essais expérimentaux, à l'IRSID, nous avons démontré qu'il y a

élution des ions fluor des marnes, ions absorbés entre les plans réticulaires de certaines argiles. D'où explication du phénomène. Le pompage conduisait à des effets de drainage et appels circulant sur des argiles. Nous avons pu montrer aussi qu'avant tout stockage d'eau dans les mines noyées, certaines avaient des eaux à 250 mg/l de sulfates. Certes il y a effet indirect humain, vu qu'il y a pompage ou soutirage. Mais les dispositifs naturels sont, eux, en place.

Les eaux du bassin forestier de Maron (Ouest de Nancy), sans pollutions, venant à la galerie de Monvaux face à l'ex- barrage de la Moselle ne révélaient aucune trace de nitrates ou nitrites. La source de la Trinité, que je connais fort bien et pour cause puisque m'appartenant, pure, issue d'un massif sans aucune culture, forestier et sans engrais, avec une teneur en nitrates de 22, mg/l, est à la limite de la potabilité théorique. Pourquoi là et pas à Maron en gîte identique? Comment expliquer autrement ces nitrates sinon par des réactions complexes à partir de la matière organique, du feuillu et ces nitrites par mécanismes biochimiques des micro-organismes ? Voilà donc des nitrites sans agriculteurs ni agriculture...

Signalons aussi ma conviction sur des études depuis longtemps au point mort, comme je l'ai signalé, que certains niveaux magnésiens des calcaires bajociens peuvent expliquer des eaux à carbonate de magnésie comme par exemple celle des sources du Château de Dieulouard, (un temps taries, vu que la mine de Saizerais avait progressivement asséché la Bouillante).

Tout ceci pour tenter de brosser d'une façon sommaire et un peu cahotique, au gré des exemples, la complexité des pollutions d'influence humaine, face à celles plus subtiles de conditions naturelles déjà en place. Et en conclusion dire ma propre conviction, bien entendu toutes garanties de protections étant assurées autour, que, bien souvent, les puits individuels dont on disposait autrefois étaient une source d'eau - cas de le dire - plus fiable que bien des captages à débits massifs modernes. On ne cesse de dire, du moins de l'eau des grandes villes qu'elle est correcte et meilleure que celle des sources minérales mêmes. C'est vrai le plus souvent biologiquement et face aux normes administratives des éléments à doser. Ce qui n'oblige pas à rester sans réflexions et interrogations sur divers problèmes, voire de méditer ; mais il vaut mieux, en fait, ne pas y penser, vu les circuits déjà pris par les cours d'eau, source principale directe ou dans les alluvions contigües des adductions urbaines. J'avoue ignorer les détails de la situation du moment ; mais on comprend que la communauté urbaine de Nancy ait mis en place l'utilisation des réserves constituées par les anciennes ballastières de Richardménil alors que jusque là on utilisait des galeries captantes en alluvions parallèles à la Moselle.

Partout la tâche est complexe et immense encore dans le domaine de la qualité de l'eau.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

MAUBEUGE P.L. -Cartes hydrogéologiques au 1/50.000 è.,
feuilles Longwy;Audun le Roman;Brévy;Chambley;Pont-à-Mousson;Nancy.
1978-1981.Imprimerie Vagner.

MAUBEUGE P.L. -Puissances et courbes de niveau des dif-
férentes formations des morts terrains de la formation ferrifère.
2 feuilles en couleurs au1/50.000 è,1972. Edition Service Géologique
Chambre Syndicale des Mines de Fer de France,et Institut de Recher-
ches de la Sidérurgie.

MAUBEUGE P.L. -Quelques données hydrogéologiques et Géo-
chimiques sur les eaux souterraines dans le Bassin ferrifère lorrain.
Bull.Technique Mines de Fer de France,2è Trim 1973,N°111,6pp.

MAUBEUGE P.L. et G.JECKO. -Lixiviation expérimentale des
marnes dans le Bassin ferrifère lorrain.C.R. Ac.Sc.Paris,t.285,28 Nov.
1977,pp.1291-94,Série D.

MAUBEUGE P.L. -Les données actuelles sur la nappe aquifè-
rere de la base du Jurassique moyen dans l'Est du Bassin de Paris.
C.R.Acad.Scrie D,T.282,2 Fév.1976,pp.429-32.

MAUBEUGE P.L.,N.CRAMPON,G.CHALUMEAU,S.RAMON. -Vulnérabi-
lité et protection des ressources en eau des calcaires bajociens dans
le Bassin ferrifère lorrain.Bull.B.R.G.M.,Sect.111,N°2,1975,pp.241-64
1 Tab.

MAUBEUGE P.L. -Hydrologie du Bassin ferrifère lorrain.
(1ère note).Bull.Tech.Mines de Fer de France,N°42,1956,23pp.Tab.,fig.

MAUBEUGE P.L. -Hydrologie du Bassin ferrifère lorrain.
(seconde note).Bull.Tech.Mines de Fer de France,1968,N°90,pp.7-25.

MAUBEUGE P.L. -Le réseau karstique de l'Aroffe(Lorraine
centrale).Bull.Tech.Mines de Fer de France,N°128,1977,15pp.,3tab .,
2 cartes.

Apport du réseau de neurones pour une détection de contours par transformée en ondelettes. *

par

M. FORTHOFFER - J.P. GIROD - J. BREMONT

**Centre de Recherche en Automatique de Nancy
Laboratoire d'Electricité et d'Automatique
Faculté des Sciences - Université de Nancy I**

RESUME

La méthode présentée dans cet article, constitue un nouvel outil d'extraction des contours d'une image en niveaux de gris, par coopération de techniques : décomposition en ondelettes et réseaux neuromimétiques.

La première partie est consacrée aux rappels nécessaires quant au formalisme de la décomposition en ondelettes, ainsi que ses principales propriétés.

La phase délicate de l'algorithme réside dans la recomposition optimale des différentes résolutions, afin d'obtenir des contours fins et sans bruit. Cette tâche est avantageusement confiée à un réseau de neurones, objet de la deuxième partie.

L'attrait majeur de cette nouvelle technique, est sa capacité à traiter correctement des images aux caractéristiques très différentes, sans avoir à modifier de paramètres.

MOTS-CLES : Ondelettes, segmentation d'images, détection de contours, réseaux de neurones.

ABSTRACT

The method exposed in this paper represents a new edge-detection tool of a grey-level image by the cooperation of two technics : wavelet decomposition and neural networks.

The first part recalls the necessary background on mono and bidimensional wavelet decomposition and their main properties.

The difficult phase of the algorithm lies in the optimal recomposition of different resolutions, in the aim to obtain thin and noiseless edges. This work is given to a neural network which constitutes the object of the second part.

The main interest of this new method is to give good results with images whose characteristics are completely different, without to modify any parameters.

KEYWORDS : Wavelets, image segmentation, edge detection, neural networks.

* Communication présentée à la séance du 02 avril 1992.

Table des matières.

1. Introduction.

2. La transformée en ondelettes.

2.1. Définitions.

2.2. Mise en œuvre algorithmique sur des signaux discrets.

3. Détection de contours par analyse multirésolution.

3.1. Transformée en ondelettes sans sous-échantillonnage.

3.2. Choix de la base de détection.

3.3. Algorithme bidimensionnel de décomposition en ondelettes.

3.4. Détection de contours 2D.

4. Coopération ondelettes-réseau de neurone.

4.1. Principe.

4.2. L'algorithme de rétropropagation.

4.3. Mise en œuvre.

4.4. Expérimentations.

4.5. Interprétation.

5. Conclusions et perspectives.

Bibliographie

1. Introduction.

La segmentation d'images est une étape pivot entre les phases d'amélioration-restauration et celle de décision. C'est à ce niveau qu'est effectuée une détection, le plus souvent non réversible, de l'information utile dans une image.

Il existe principalement deux approches pour segmenter une image : l'approche par les contours et l'approche par les régions qui lui est duale. Nous nous intéressons ici à l'approche par la détection de contours [10].

Il s'avère que, tenir compte de facteurs perturbateurs tels que le flou ou le bruit apportés lors des phases d'acquisition ou de prises de vues, améliore sensiblement les performances de la détection [4].

La transformée en ondelettes est une analyse multi-échelle permettant une meilleure interprétation du signal et donc des perturbations [3].

La phase de détection de contours réside dans l'extraction des discontinuités de l'image, depuis les différentes échelles. Une solution consiste à combiner les différentes résolutions du signal image, en utilisant un réseau de neurones [12]. Celui-ci est chargé de déterminer une loi de combinaison optimale, face à un critère d'erreur quadratique, calculé pendant la phase d'apprentissage, à l'aide d'une référence déterminée par un expert.

Cette approche originale permet d'appréhender automatiquement, par le biais de l'apprentissage neuronal, le caractère multirésolution de la décomposition en ondelettes.

2. La transformée en ondelettes.

2.1. Définitions.

Les ondelettes sont des fonctions déterminées par dilatations et translations, à partir d'une fonction ψ appelée ondelette mère. Cette fonction, introduite par Morlet et Grossman [5], permet l'analyse d'un signal.

$$(1) \quad \psi_{a,b}(t) = a^{-1/2} \cdot \psi\left(\frac{t-b}{a}\right) \text{ avec } a > 0,$$

où a est le facteur d'échelle, b le facteur de translation et t le temps.

Pour une analyse temps-échelle efficace, ψ doit être bien localisée en temps et en fréquence. En outre, l'ondelette ψ est assimilée à un filtre passe-haut :

$$(2) \quad \int \psi(x) dx = 0.$$

Parallèlement à une décomposition en série de Fourier, la transformée en ondelettes permet de synthétiser un signal en tant que somme de plusieurs

ondelettes de facteurs d'échelles variables. Y. Meyer [9], a montré que les fonctions $\psi_{j,k}(t)$ constituent une base orthogonale de $L^2(\mathbb{R})$ pour $a=2^j$ et $b=k2^j$.

$$(3) \quad \psi_{j,k}(t) = 2^{-j/2} \cdot \psi(2^{-j}t-k) \quad (j,k) \in \mathbb{Z}^2.$$

Les coefficients d'ondelettes sont alors calculés par :

$$(4) \quad C_{j,k} = \langle f, \psi_{j,k}(t) \rangle = \int \psi_{j,k}(x) \cdot f(x) \cdot dx$$

et $f(x) = \sum C_{j,k} \cdot \psi_{j,k}(x).$

La notion d'analyse multirésolution est introduite en définissant une fonction ϕ , telle que :

$$(5) \quad \phi_{j,k}(t) = 2^{-j/2} \phi(2^{-j}t-k)$$

La projection sur la famille de fonctions $\phi_{j,k}$ donne une approximation du signal à la résolution 2^j . La perte d'informations, due au passage de la résolution 2^{j+1} à la résolution 2^j , est contenue dans les coefficients $C_{j,k}$.

2.2. Mise en oeuvre algorithmique sur des signaux discrets.

Les informations contenues dans les images sont échantillonnées. La transformée en ondelettes est alors calculée [3][8][9] à partir des relations suivantes :

$$(6) \quad C_{j,k} = \sum_n g_{2k-n} S_{j+1,n} \quad S_{j,k} = \sum_n h_{2k-n} S_{j+1,n}.$$

où $h_n = 2^{1/2} \int \phi(x-n) \phi(2x) dx$ est un filtre passe-bas et $g_n = (-1)^n h_{-n+1}$ est un filtre passe-haut.

L'algorithme ainsi défini est représenté dans la figure 1. Il est à codage en sous-bandes par des filtres CQF (conjugate quadrature filters [11]).

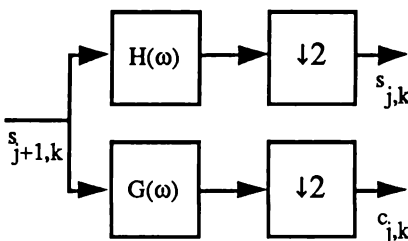


fig. 1. - Décomposition en ondelettes.

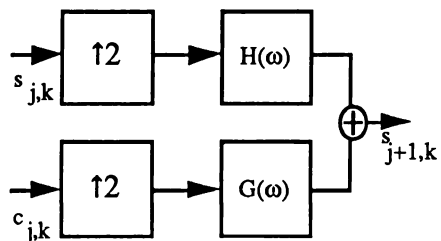


fig. 2. - Reconstruction du signal.

Les conditions d'obtention d'une base orthogonale sont :

$$(7) \quad |H(\omega)|^2 + |H(\omega+\pi)|^2 = 2 \quad G(\omega) = e^{-i\omega} H(\omega+\pi).$$

Ces filtres, ainsi définis permettent alors une reconstruction exacte :

$$(8) \quad S_{j+1,k} = \sum_n (h_{2n-k} S_{j,n} + g_{2n-k} C_{j,n}),$$

donnée dans la figure 2.

L'opération de décomposition en niveaux de résolution successifs est illustrée par la figure 3, dans laquelle les traits pleins matérialisent la prise en compte des informations par les coefficients des filtres h et g . Les croix représentent les informations délaissées lors du passage de la résolution $j+1$ à la résolution j .

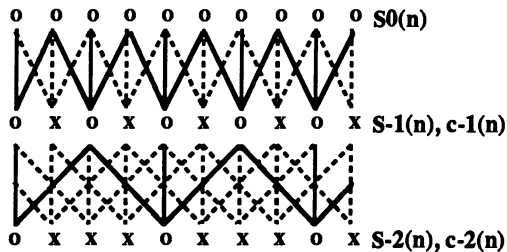


fig. 3. - Diagramme neuronal.

3. Détection de contours par analyse multi-résolution.

3.1. Transformée en ondelettes sans sous-échantillonnage.

Dans la problématique de détection de contours, les informations exploitées sont essentiellement contenues dans les hautes-fréquences, c'est-à-dire les coefficients d'ondelettes $C_{j,k}$. Le sous-échantillonnage matérialisé par l'alternance des "x" et "o" dans la figure 3, provoque la non invariance en translation de la transformée en ondelettes, ce qui entraîne une réponse différente, selon la position de la discontinuité (échantillon pair ou impair).

Pour pallier à ce problème, nous calculons la totalité des échantillons marqués "o" et "x", en intercalant simplement $2^{-j}-1$ zéros entre les coefficients des filtres h et g qui permettent le passage du niveau de résolution $j+1$ au niveau de résolution j [3][6][7].

Cette opération revient à dilater l'échelle des fréquences ($H(\omega) \rightarrow H(2^{-j}\omega)$ et $G(\omega) \rightarrow G(2^{-j}\omega)$). Les figures 4 et 5 représentent la décomposition et la reconstruction du signal avec ces hypothèses.

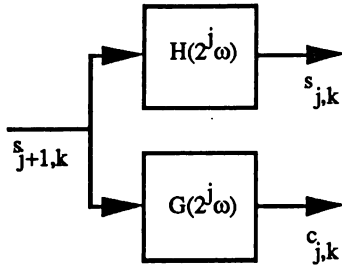


fig. 4. - Décomposition du signal.

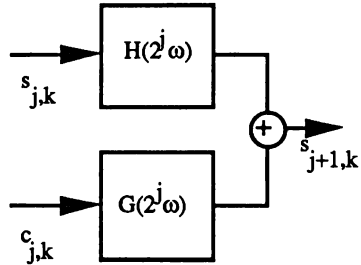


fig. 5. - Reconstruction du signal.

3.2. Choix de la base de détection.

Le problème de la détection de contours impose un choix de base assez restrictif. Celle-ci doit être représentée par un filtre $g(n)$, de type gradient ou laplacien, c'est-à-dire du 1^{er} ou du 2^{ème} ordre. Malheureusement, la plupart des bases d'ondelettes sont d'ordre supérieur, ce qui les rend inadaptées à notre problème. Une seconde contrainte est la taille de ces filtres. Pour une détection rapide, il est impératif de minimiser les temps de calcul et les effets de bords, par l'utilisation de filtres courts. Une base, remplissant ces contraintes, est celle de Haar, dont les filtres H et G associés, sont de la forme :

$$(9) \quad |H(\omega)| = \left| \cos \frac{\omega}{2} \right| \text{ et } |G(\omega)| = \left| \sin \frac{\omega}{2} \right| \quad \text{avec } \omega \in [-\pi, \pi] .$$

La décomposition en ondelettes est alors effectuée par des filtres $F_j(\omega)$, où j représente le niveau de résolution. Pour $j = -1$ à -3 , ils ont la forme suivante :

$$(10) \quad F_{-1}(\omega) = G(\omega) , \quad F_{-2}(\omega) = H(\omega) G(2\omega) , \quad F_{-3}(\omega) = H(\omega)H(2\omega)G(4\omega) .$$

Pour une décomposition complète, il faudrait ajouter un filtre représentant l'approximation du signal à la résolution j :

$$(10') \quad A_{-1}(\omega) = H(\omega) , \quad A_{-2}(\omega) = H(\omega) H(2\omega) , \quad A_{-3}(\omega) = H(\omega) H(2\omega) H(4\omega) .$$

3.3. Algorithme bidimensionnel de décomposition en ondelettes.

Pour la décomposition en ondelettes d'une image, l'algorithme est appliqué en lignes et en colonnes. Les filtres de décomposition deviennent alors :

$$(11) \quad F_{Hj}(\omega_1, \omega_2) = F_j(\omega_1) A_j(\omega_2) , \quad F_{Vj}(\omega_1, \omega_2) = A_j(\omega_1) F_j(\omega_2) \\ F_{Dj}(\omega_1, \omega_2) = F_j(\omega_1) F_j(\omega_2) ,$$

où F_{Hj} , F_{Vj} et F_{Dj} ont pour effet de mettre en valeur les contours horizontaux, verticaux et diagonaux.

Pratiquement le signal obtenu avec F_{Dj} , n'apportant que très peu d'informations supplémentaires, n'est plus considéré par la suite, l'algorithme de décomposition résultant est représenté sur la figure 6.

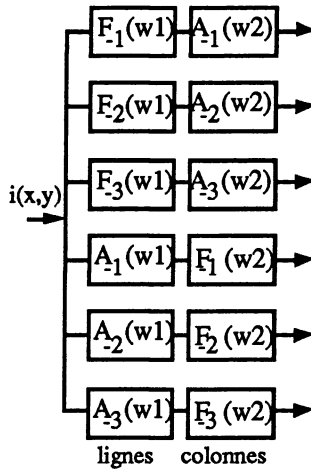


fig. 6. - Algorithme de décomposition.

3.4. Détection de contours 2D.

L'information contours, correspondant aux discontinuités de l'image d'origine est présente dans chacune des résolutions de la décomposition en ondelettes.

Dans les résolutions fines, les contours sont bien localisés mais très sensibles au bruit et atténués par le flou optique. Dans les résolutions grossières, ils sont peu perturbés par le bruit et le flou, mais leur localisation y est peu précise.

La combinaison des informations multirésolution permet alors l'extraction de contours bien localisés et peu sensibles aux perturbations. L'exploitation optimale des caractéristiques de chaque résolution constitue la principale difficulté de cette technique.

Dans la pratique, la plus grande partie de l'information significative sur les contours est contenue dans les trois premières résolutions qui sont donc les seules exploitées par la suite.

4. Coopération "ondelettes-réseau de neurones".

4.1 Principe.

La recherche d'une loi de composition de toutes ces informations, optimale pour un grand nombre d'images aux caractéristiques très différentes, est donc le point crucial de cette technique. Les difficultés rencontrées dans la recherche de cette loi, nous ont conduits à confier cette tâche à un réseau de neurones, [2], [12].

Le modèle utilisé est représenté par la figure 7. Il s'agit d'un réseau à couches, dont l'apprentissage est régi par la règle de rétropropagation du gradient [1].

L'interface entre la décomposition en ondelettes et le réseau de neurones est réalisée en appliquant à chaque neurone de la couche d'entrée, les niveaux des pixels présents dans chacune des trois résolutions retenues, dans les deux directions et suivant un voisinage 3 x 3. Chaque neurone de la couche d'entrée reçoit donc 3 résolutions x 2 directions x 9 pixels, soit un vecteur de 54 composantes.

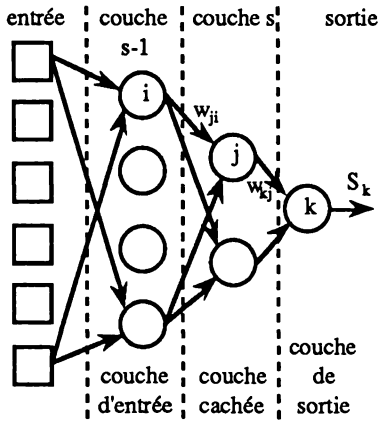


fig. 7. - Réseau à couches.

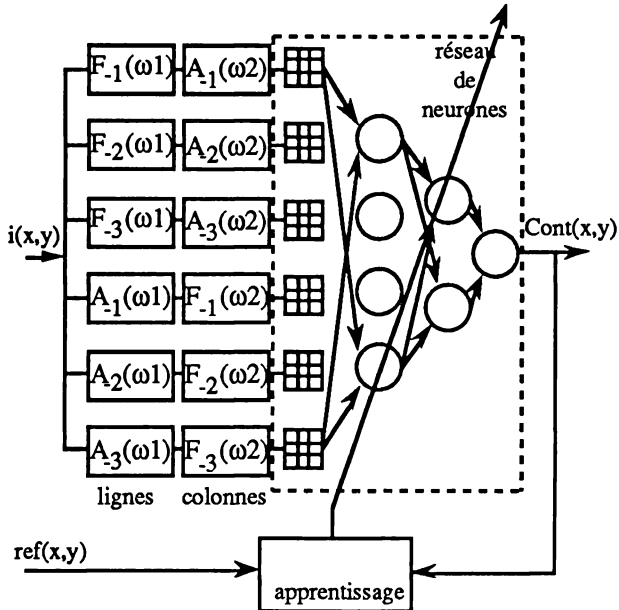


fig. 8. - Coopération ondelettes-neurones.

4.2. L'algorithme de rétropropagation.

Un réseau de neurones est constitué de cellules élémentaires interconnectées par des liaisons pondérées w . Chaque cellule j appartenant à la couche s , appelée également neurone formel, possède une fonction d'entrée totale $I_j^{[s]}$ et une fonction de transfert $f(I)$ permettant de définir leurs états d'activations $x_j^{[s]}$.

$$(12) \quad I_j^{[s]} = \sum_i \left(w_{ji}^{[s]} \cdot x_i^{[s-1]} \right),$$

$$(13) \quad f(I) = \frac{1}{1 + e^{-I}},$$

$$(14) \quad x_j^{[s]} = f \left(I_j^{[s]} \right).$$

L'apprentissage a pour rôle de régler les liaisons w_{ji} reliant les neurones entre-eux et aux entrées, en tenant compte de l'erreur quadratique E , entre la sortie réelle s_k du réseau et la sortie désirée d_k .

$$(15) \quad E = \frac{1}{2} \sum_k (d_k - s_k)^2.$$

La règle utilisée est la classique rétropropagation du gradient de l'erreur de sortie, définie par la formule de modification des poids des liaisons entre les neurones :

$$(16) \quad w_{ji}^{[s]}(t+1) = w_{ji}^{[s]}(t) - a(t) e_j^{[s]} \cdot x_i^{[s-1]},$$

où $w_{ji}^{[s]}(t+1)$ est la nouvelle valeur du poids qui relie la sortie du neurone i de la couche $s-1$, à l'entrée du neurone j de la couche s . $a(t)$ est le coefficient d'apprentissage comparable à un pas de gradient, et $e_j^{[s]}$ est un terme représentatif de l'erreur locale en sortie du neurone j de la couche s . Cette erreur locale est donnée directement par la différence entre la sortie désirée d_k et la sortie réelle s_k pour la couche de sortie :

$$(17) \quad e_k^{[sortie]} = \frac{\partial E}{\partial I_k^{[sortie]}} = - \left(d_k - s_k^{[sortie]} \right),$$

et par une forme récurrente pour les autres couches :

$$(18) \quad e_j^{[s]} = \sum_k \left(e_k^{[s+1]} \cdot w_{kj}^{[s+1]} \right) \cdot f' \left(I_j^{[s]} \right).$$

4.3. Mise en œuvre.

Le réseau de neurones a pour fonction de déterminer si le pixel de coordonnées (x,y) dans l'image d'origine, appartient au tracé d'un contour.

A cet effet, il ne comporte qu'un seul neurone dans sa couche de sortie, et son niveau d'activation doit refléter un degré d'appartenance à une frontière. Pour effectuer ce traitement sur toute l'image, la structure neuronale est appliquée successivement sur tous les pixels des images de la décomposition en ondelettes.

Apprentissage :

La rétropropagation du gradient est un algorithme d'apprentissage supervisé, il est donc indispensable de lui fournir une image de référence, modèle du résultat à atteindre. Nous avons à cet effet constitué des leçons, à partir de la banque d'images du GRECO GDR 134-GT8, sur lesquelles nous avons extrait les contours à l'aide de méthodes classiques, adaptées à chacune d'elles.

Après avoir effectué la décomposition en ondelettes d'une image brute, nous présentons successivement chaque pixel de l'image des différentes résolutions à l'entrée du réseau. Celui-ci génère alors une sortie, qui est comparée à la valeur du pixel correspondant dans l'image de référence pour donner l'erreur locale en sortie. Cette erreur est ensuite rétropropagée dans le réseau, afin de modifier chaque poids, ainsi, à chaque itération, la sortie du réseau se rapproche du modèle.

Lorsque l'erreur quadratique globale sur l'image n'évolue plus, l'apprentissage est terminé.

Le but visé étant l'obtention d'un réseau capable de traiter indifféremment et sans modification de réglage, des images de caractéristiques très différentes, la propriété recherchée est la capacité de généralisation.

Pour que le réseau bénéficie de cette propriété, deux conditions principales sont à respecter :

- il faut que les images utilisées lors de l'apprentissage aient des caractéristiques variées, le lot utilisé est représenté par les figures 11 et 12.

- il faut limiter la connectivité du réseau, sans quoi il serait capable d'apprendre "par coeur" les leçons, et incapable de traiter correctement une image inconnue.

Utilisation :

Lors de l'utilisation, le réseau reçoit en entrée l'image des différentes résolutions de la décomposition en ondelettes. Le réseau se comporte comme un classificateur dont la valeur de sortie définit le tracé des contours.

4.4. Expérimentations.

Afin que le réseau dispose sur ses entrées, d'un maximum d'informations, nous lui injectons une fenêtre de taille 3x3 centrée sur le pixel à classifier, pour chaque résolution. Le seul prétraitement, commun à toutes les images avant la décomposition en ondelette, est un simple rehaussement global.

Dans le but d'obtenir une bonne généralisation du réseau employé, les images brutes et de références sont en fait des agrégats de différentes images, choisies pour leurs disparités de caractéristiques.

La difficulté majeure rencontrée, lors de la mise en oeuvre des réseaux de neurones, est le choix du nombre de couches et du nombre de neurones que comporte chacune d'elles.

Les expérimentations ont montré que si le réseau est trop complexe, il apprend bien mais généralise mal, ce qui nous conduit à rechercher la structure la plus simple possible, capable de donner un résultat satisfaisant.

Le réseau finalement retenu est assez simple, puisqu'il ne comporte que trois couches contenant six neurones dans celle d'entrée, quatre dans la deuxième, et un seul dans celle de sortie.

Cette relative simplicité cache cependant un grand nombre de degrés de liberté représentés par le nombre de liaisons. En effet, utilisant trois résolutions horizontales et trois verticales, reliées à chaque neurone de la couche d'entrée par neuf poids chacune (3x3), nous sommes donc en présence de $9 \times 6 \times 6 = 324$ paramètres dans la première couche, 24 dans la deuxième et 4 dans la dernière.

A l'issue de la phase d'apprentissage, dont le rôle est de régler au mieux ces 352 paramètres, le réseau est capable d'extraire les contours à partir des images des différentes résolutions, en éliminant une grande partie du bruit et en complétant même certains contours qui n'apparaissent pas dans le modèle.

Les figures 14 et 15 montrent les résultats obtenus sur les images des figures 11 et 12 appartenant aux leçons apprises.

L'intérêt de la méthode proposée réside dans la capacité à traiter des images étrangères à la banque d'apprentissage. Les résultats atteints dans ce cadre sont très intéressants, comme le montre la figure 16 obtenue en appliquant, sans aucune modification des paramètres, notre algorithme à l'image de la figure 13.

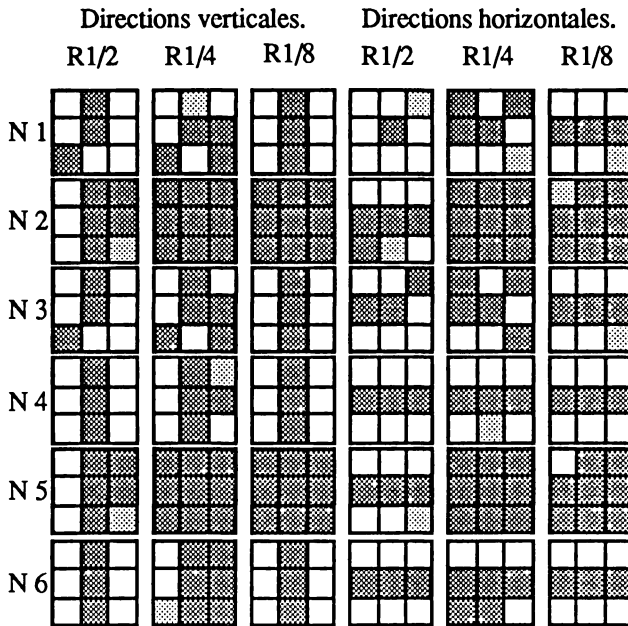
4.5. Interprétation.

L'interprétation des poids des neurones est délicate. En supposant que tous les poids positifs ou négatifs, sont d'amplitude presque identique nous pouvons alors extraire plusieurs formes typiques de "masques d'entrée", qui sont représentées par la figure 10. Ces informations sont combinées par les couches intermédiaires qui permettent la détection effective des contours.

Certaines configurations des poids en entrée du réseau ont des tâches très spécifiques telles que,

- le calcul de la moyenne qui permet de rehausser le contour ou de le séparer du bruit,
- l'extraction des maxima qui accentue et affine le contour,
- les opérations privilégiant la géométrie des contours (traits, angles, jonctions, ...).

Dans l'exemple de la figure 9, les neurones 2 et 5 effectuent sensiblement les mêmes opérations. Un pixel de poids nul a une double interprétation. Il peut indiquer que l'information sur le pixel correspondant n'est sans doute pas représentative du résultat recherché, ou que l'apprentissage n'est pas optimal, c'est-à-dire le plus souvent inachevé. Dans ce cas, la configuration du réseau n'est pas encore celle du chemin idéal recherché entre l'entrée et la sortie du réseau, et on ne peut rien dire sur la pertinence de l'information. Cette dernière hypothèse est la plus probable, la quantité d'informations présentes dans une image, rendant la modélisation d'un tel processus impossible à réaliser de façon exacte. C'est pour cette raison qu'il subsiste toujours quelques configurations de poids d'entrée de réseau, qui ne correspondent à aucune structure classique.

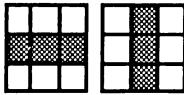


N i : Neurone n°i de la couche d'entrée.

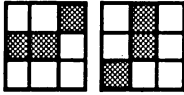
fig. 9. - Poids des neurones d'entrée.



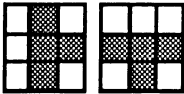
Tous les poids sont positifs.
Le masque est associé à un calcul de moyenne.



Le masque est associé à un laplacien.
Les directions verticales
ou horizontales sont privilégiées.



Le masque est associé à un laplacien.
Les directions verticales et diagonales
horizontales et diagonales sont privilégiées.



Le masque est spécifique
aux jonctions de contours.

fig. 10. - Interprétation des masques.

Les tâches effectuées par les neurones de la couche cachée et le neurone de sortie sont plus délicates à analyser, mais, à ce stade des expérimentations, nous pouvons supposer qu'ils prennent en compte des notions plus complexes, telles que le bruit ou le flou [4].

5. Conclusions et perspectives.

La coopération des deux techniques permet d'allier avantageusement d'une part, la représentation complète du signal sous différentes résolutions, fournie par la transformation en ondelettes, et d'autre part le caractère autoréglable des réseaux neuromimétiques, dans la recherche d'une loi de recombinaison optimale.

Le principal attrait de cette méthode, contrairement à celles utilisant les gradients ou les laplaciens, est de fournir des contours presque binaires, bien localisés, pour des transitions lentes, rapides ou bruitées, sans avoir de paramètres à ajuster pour chaque situation.

La méthode proposée n'a pas la prétention de devenir un outil universel, mais elle ouvre la voie à d'autres expérimentations dans la recherche de moyens polyvalents de segmentation, en intégrant une phase embryonnaire d'interprétation.

Hormis la phase préliminaire d'apprentissage très coûteuse en temps de calculs, l'exploitation de cette méthode peut s'envisager en temps réel avec une architecture pipe-line, dans la mesure où la transformée en ondelettes, comme les réseaux de neurones, peuvent se décomposer en produits de convolution.

Par ailleurs, il reste beaucoup d'expérimentations à faire dans le domaine des ondelettes, comme l'utilisation de décompositions en quinconce. Leur caractère isotrope et non séparable, permet de réduire le nombre de résolutions à étudier, donc a priori les temps de calculs. Cependant, elle nécessite l'emploi d'opérateurs d'ordre supérieur à 2 dont le comportement peut-être plus difficile à exploiter.



fig. 11. - Image COULOIR.

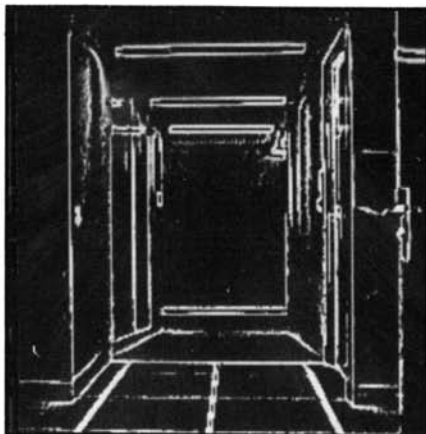


fig. 14. - Contours COULOIR.



fig. 12. - Image AQUITAIN.



fig. 15. - Contours AQUITAIN.



fig. 13. - Image FEMME.



fig. 16. - Contours FEMME.

Bibliographie

- [1] E. DAVALO & P. NAIM, - "Des réseaux de neurones" - PARIS, EYROLLES, 1990.
- [2] D.J. EVANS & al, - "Searching sets of properties with neural networks" - Parallel Computing, N°16, 1990, p. 279-285.
- [3] J.C. FAUVEAU, - "Analyse multi-résolution par ondelettes non orthogonales et bancs de filtres numériques" - Thèse de Doctorat, spécialité informatique, Université de Paris Sud, 1990.
- [4] M. FORTHOFFER, - "Détection de contours par transformée en ondelettes et réseaux de neurones" - Thèse de Doctorat, spécialité automatique, Université de Nancy I, 1991.
- [5] A. GROSSMANN & J. MORLET, - "Decomposition of Hardy functions into square integrable wavelets of constant shape" - SIAM J. Math., vol 15, 1984, p. 723-736.
- [6] S.G. MALLAT, - "A Theory for Multiresolution Signal Decomposition : The Wavelet Representation" - IEEE Trans. on Pattern Analysis and Machine Intelligence, n°7, July 1989, vol. 11.
- [7] S.G. MALLAT, - "Multiresolution representations and wavelets" - Thèse, GRASP Lab, Dept. of computer and information science, Univ of pennsylvania, 1988.
- [8] P. MATHIEU & al, - "Compression d'images par transformée en ondelette et quantification vectorielle" - Traitement du Signal, Vol 7, n°2, 1990.
- [9] Y. MEYER, - "Principe d'incertitude, bases hilbertiennes et algèbre d'opérateurs"
- Séminaire Bourbaki n°662, 1985-86.
- [10] O. MONGA, - "segmentation d'images : où en sommes nous ?" - rapport de recherche INRIA-Rocquencourt, N°1216, support de cours pour le congrès PIXIM 89, 1990.
- [11] M.J. SMITH and D.P. BARNWELL, Exact reconstruction for tree-structured subband coders. IEEE Trans. on ASSP 34, 1986, p.434-441.
- [12] P. J. WERBOS - "Backpropagation through time: what it does and how to do it" - Proceedings of the IEEE, N° 10, October 1990, vol. 78.

L'HEMOGLOBINE MODIFIEE PAR LE DEXTRAN BENZENE
TETRACARBOXYLATE : UN SUBSTITUT POTENTIEL DU SANG ?

RESULTATS PRELIMINAIRES DE L'EVALUATION PHYSICOCHIMIQUE ET
PHARMACOLOGIQUE.

P. MENU, B. FAIVRE , E. DELLACHERIE*, P. LABRUDE et C VIGNERON.

—
Introduction

Le sang est l'un des constituants majeurs de l'organisme humain, mais son usage transfusionnel n'est cependant pas dénué d'inconvénients: l'incompatibilité entre les groupes sanguins, la contamination virale... imposent une grande prudence et limitent son utilisation. De plus, les difficultés d'approvisionnement et de conservation en font un produit à disponibilité insuffisante en cas de catastrophes ou de conflits armés.

Puisque le sang demeure aujourd'hui une nécessité médicale et se révèle un enjeu économique, différents produits de substitution ont été développés :

- les substituts du plasma couramment utilisés sont capables de restaurer la volémie, mais pas de transporter l'oxygène (1).

- les substituts synthétiques "transporteurs d'oxygène", à base de fluorocarbures, de porphyrines de synthèse ou d'hématies modifiées...(2) ne semblent pas répondre aux impératifs cliniques.

- les substituts à base d'hémoglobine peuvent, par contre, à la fois restaurer la volémie et transporter l'oxygène. Le pigment respiratoire naturel, extrait des hématies humaines ou animales, est peu toxique et de faible viscosité; il possède un pouvoir oncotique nécessaire à tout substitut du plasma et permet de valoriser le sang arrivé à préemption et destiné à la destruction.

Cependant, l'emploi de l'hémoglobine non modifiée ne répond qu'imparfaitement aux critères d'un "bon substitut du plasma transporteur d'oxygène" car elle présente deux principaux inconvénients : une forte affinité pour l'oxygène et une faible rémanence vasculaire. C'est pourquoi différents procédés visant à modifier chimiquement l'hémoprotéine ont été mis en oeuvre afin de corriger ces limites. Il s'agit de conjugaisons intra- ou inter-moléculaires de l'hémoglobine à des molécules biocompatibles qui sont actuellement testées par différentes équipes (3, 4, 5, 6).

Le produit préparé par notre groupe - faculté de Pharmacie, l'ENSIC (Nancy) et PASTEUR-MERIEUX, Sérums & Vaccins (Marcy l'Etoile) - est une hémoglobine

Note présentée à la séance du 13 février 1992. Transmise par Melle. S. BESSON.

modifiée par fixation covalente de dextran-benzène-tétracarboxylate dont la solution possède actuellement les caractéristiques physicochimiques nécessaires pour pouvoir être étudiée sur l'animal.

Notre travail consiste en l'étude pharmacotoxicologique de cette solution : vérification de l'innocuité, détermination de la dose létale 50%, de la demi-vie plasmatique et de l'histocompatibilité, évaluation de la capacité oxyphorique des solutions et de la restauration de la volémie qu'elles permettent au moyen de chocs hémorragiques et d'exsanguinotransfusions totales chez le cobaye.

Nous présentons ici les premiers résultats de cette étude.

Matériels et méthodes

1) Préparation de la solution d'hémoglobine et du polymère

La solution d'hémoglobine humaine non modifiée préparée selon la méthode décrite par Menu et al (2) est ultrafiltrée sur membrane de seuil de coupure 100 kD (cassette Millipore, Saint Quentin en Yvelines, France) et purifiée par chromatographie (2) sur DEAE Sphérodex (Pharmacia, Suède) en tampon phosphate 0,01M, pH 7,2, avant d'être soumise aux modifications chimiques.

La synthèse du dextran-benzène-tétracarboxylate (Dex-BTC) est réalisée comme décrit par Fasan (7): 250 g de dextran T10 (de masse moyenne en poids 10 kD - Pharmacia) dissous dans 2,5 l d'eau distillée, sont progressivement additionnés de 35 g d'anhydride 1,2,4,5-benzène tétracarboxylique (BTCA, Aldrich, Allemagne), le pH étant maintenu à 9,2 par ajout de NaOH M. Après une heure de contact à température ambiante, le polymère Dex-BTC obtenu est ultrafiltré sur une membrane de seuil de coupure 1 kD (cassette Millipore).

2) Fixation du Dex-BTC sur l'hémoglobine

Le Dex-BTC est fixé de façon covalente à l'hémoglobine (figure 1) à l'aide de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthyl carbodiimide (EDCI, Aldrich, Allemagne). Les produits sont mélangés dans l'ordre suivant : 10 g de polymère, 200 ml de solution d'oxyhémoglobine à 100 g/l, 360 mg d'EDCI. Après une heure à 4°C, le mélange est filtré sur membrane de porosité 0,45 µm (Sartorius, Palaiseau, France), diafiltré tangentiellement sur une membrane de seuil de coupure 100 kD (cassette Millipore) permettant d'éliminer les sous-produits réactionnels et de diminuer le pourcentage d'hémoglobine non conjuguée. La solution du produit final, l'Hémoglobine-Dextran-Benzène-Tétra-Carboxylate (Hb-Dex-BTC) est ajustée à 70 g/l, isotonisée en Tyrode par diafiltration tangentielle, stérilisée sur membrane de porosité 0,22 µm (Sartorius), et stockée à -20°C.

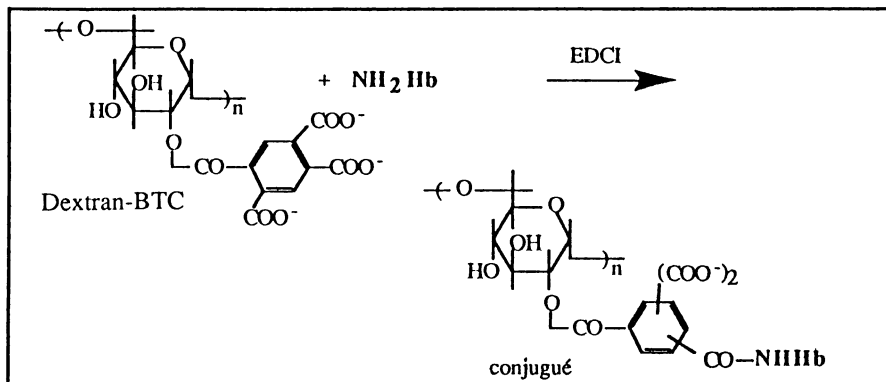


Figure 1 : Conjugaison du dextran-benzène-tétracarboxylate (Dex-BTC) à l'oxyhémoglobine, en présence de 1-(3-diméthyl-aminopropyl)-3-éthyl carbodiimide (EDCI).

Solutions témoins : La solution d'Hb-Dex-BTC est comparée à des solutions d'hémoglobine non modifiée purifiée à 70 g/l (Hb) et d'albumine humaine purifiée à 50 g/l (Alb), isotonisées identiquement, stériles et apyrogènes.

3) Analyse physicochimique des solutions

Le conjugué Hb-Dex-BTC est soumis à une analyse chromatographique par HPLC sur appareil Varian LC 5020 équipé d'un détecteur UV100 et couplé à un intégrateur Vista 401 (Les Ulis, France), sur colonne de chromatographie TSK G3000 SW (Touzart & Matignon, Vitry/Seine, France) en tampon phosphate 0,05M, pH 7,2, avec un débit de 0,7ml/mn et lecture à 403 nm.

La détermination des paramètres physicochimiques tels que la concentration en hémoglobine, les pourcentages d'hémoglobine non conjuguée et de méthémoglobine, la saturation en oxygène, le spectre entre 500 et 700 nm..., ainsi que des constantes physiologiques comme la P50 et le nombre de Hill, la quantité d'oxygène relarguée entre 100 et 40 mmHg (13,3 et 5,3 kPa), la pression oncotique, la viscosité... est réalisée selon les méthodes habituelles (2).

La recherche de modifications des temps de la coagulation sanguine (temps de céphaline activée, temps de Quick, taux de fibrinogène) et celle d'agglutinations non spécifiques du conjugué Hb-Dex-BTC avec les différents phénotypes des hématies humaines est effectuée selon les techniques habituelles (2, 8).

4) Evaluation pharmacotoxicologique

Elle est réalisée selon les protocoles suivants, sur des souris Swiss (Iffa-Credo, France) et des cobayes Hartley VAF (Charles River, France).

-Essai de toxicité anormale sur la souris par injection de 20 ml/kg de poids corporel des solutions mères (Hb à 70g/l et Dex-BTC à 110 g/l) et des solutions terminées à 70g/l de protéines, selon la Pharmacopée française (9).

-Recherche des substances pyrogènes sur le lapin par injection intraveineuse de 1 ml de ces solutions par kg de poids corporel (9).

- Recherche des substances hypotensives sur le cobaye par injection intraveineuse de 250 mg de protéine / kg de poids corporel suivie de l'observation des effets sur la pression artérielle (10).

- Recherche de la dose létale 50% (DL 50) sur la souris et le cobaye. Un volume de la solution étudiée équivalent à 50% du volume sanguin de l'animal est injecté en surcharge par voie veineuse. L'évolution pondérale est observée pendant les trois semaines suivant l'injection. La pesée des organes vitaux (coeur, foie, poumons, reins, rate), la mesure du volume de bile (cobaye) et la recherche d'une présence éventuelle d'hémoglobine dans les différentes cavités de l'organisme sont effectuées à l'issue de cette période.

- Evaluation de la rémanence vasculaire (cobaye), par l'étude qualitative et quantitative à intervalles de temps réguliers, de l'hémoglobine extraérythrocytaire circulante. Cette étude consiste essentiellement à déterminer la demi-vie plasmatique du conjugué. A l'aide d'un cathéter permanent placé dans l'artère fémorale de l'animal, 4 ml de sang sont soustraits puis remplacés par 5 ml de la solution étudiée (10).

- Evaluation de la capacité à restaurer la volémie et à oxygéner l'organisme par des chocs hémorragiques (cobaye) avec soustraction de 50 et 70 % du volume sanguin (11) et des exsanguinotransfusions isovolémiques et totales (cobaye) (2).

Au cours de ces expérimentations, les paramètres comme l'ECG, la pression artérielle, le rythme respiratoire (Physiograph DMP-4B, Houston, USA), le pH et les gaz du sang (ABL2, Radiometer, Copenhagen, Danemark), la concentration en Hb, les pourcentages d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine et le calcul du contenu en oxygène (Co-Oxymetre 282, IL, Lexington, USA) sont mesurés. L'élimination urinaire est appréciée au cours de la survie (2). Les prélèvements sanguins et urinaires sont analysés par HPLC selon le même procédé que cité précédemment, afin de vérifier la cohésion du couplage et les dosages d'hémoglobine (12) et de méthémoglobine (13) sont effectués.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm l'erreur standard ($\bar{X} \pm \text{SEM}$).

Résultats et discussion

1) Caractéristiques des solutions mères (Hb et Dex-BTC) et du conjugué (Hb-Dex-BTC)
La solution d'hémoglobine humaine non modifiée est atoxique et apyrogène.

Le polymère Dex-BTC est exempt, après l'ultrafiltration, de sous-produits résiduels du couplage. La quantité de BTC effectivement fixé est de 0,32 mmol/g de polymère, ce qui donne au composé une masse moléculaire voisine de 20 kD. Ce polymère est atoxique et apyrogène en solution isotonique.

Le conjugué Hb-Dex-BTC est de préparation aisée. Un rapport molaire de 10 dextrans par mole d'Hb, en présence 6 moles d'EDCI par mole d'Hb, aboutit à un conjugué de distribution moléculaire voisine de 300 kD. Le couplage n'est pas total puisqu'il persiste environ 11% d'Hb non conjuguée (figure 2a).

L'isotonisation permet d'obtenir des solutions dont la concentration ionique, la concentration en glucose (1 g/l) et l'osmolalité (290-310 mOsm/kg) sont proches de celles du plasma.

La solution d'Hb-Dex-BTC n'a aucune influence sur la coagulation : les temps mesurés avec le plasma additionné volume à volume soit d'une solution NaCl 9 g/l soit d'Hb modifiée ou non, sont sensiblement identiques. Ces solutions d'hémoglobine ne provoquent aucun phénomène d'agglutination en présence d'hématies, quelque soit leur phénotype.

Les caractéristiques physicochimiques des différentes solutions et du sang sont regroupées dans le tableau I.

	[Hb] g/l	MetHb %	SaO ₂ %	P50 kPa	n de Hill	CO ₂ ¹ ml/g	[Prot] ² g/l	Viscosité cSt	PO ³ kPa
Hb-Dex-BTC	70	< 5	98	3,03	2,50	0,30	70	1,90	4,0
Hb native	70	< 1	98	1,71	2,59	0,07	70	0,88	3,1
Albumine	/	/	/	/	/	/	50	1,20	2,0
Sang	140	98	< 1	3,51	2,36	0,32	140	1,9-2,3	3,2-3,7

Tableau I : Caractéristiques physicochimiques des solutions étudiées.

¹ Quantité d'O₂ relarguée par g d'Hb à l'issue d'une diminution de la PaO₂ de 13,3 à 5,3 kPa.

² Concentration en protéines dans la solution. ³ Pression oncotique.

On peut remarquer que les valeurs trouvées pour l'Hb-Dex-BTC sont proches de celles du sang. On note aussi que la capacité du conjugué à transporter et à relarguer l'oxygène est similaire à celle des érythrocytes et que la viscosité et la pression oncotique sont compatibles avec les impératifs de l'organisme, et proches de celles de l'albumine humaine, soluté de remplissage d'utilisation courante.

Le conjugué Hb-Dex-BTC présente des caractéristiques physicochimiques nettement plus physiologiques que l'Hb non modifiée.

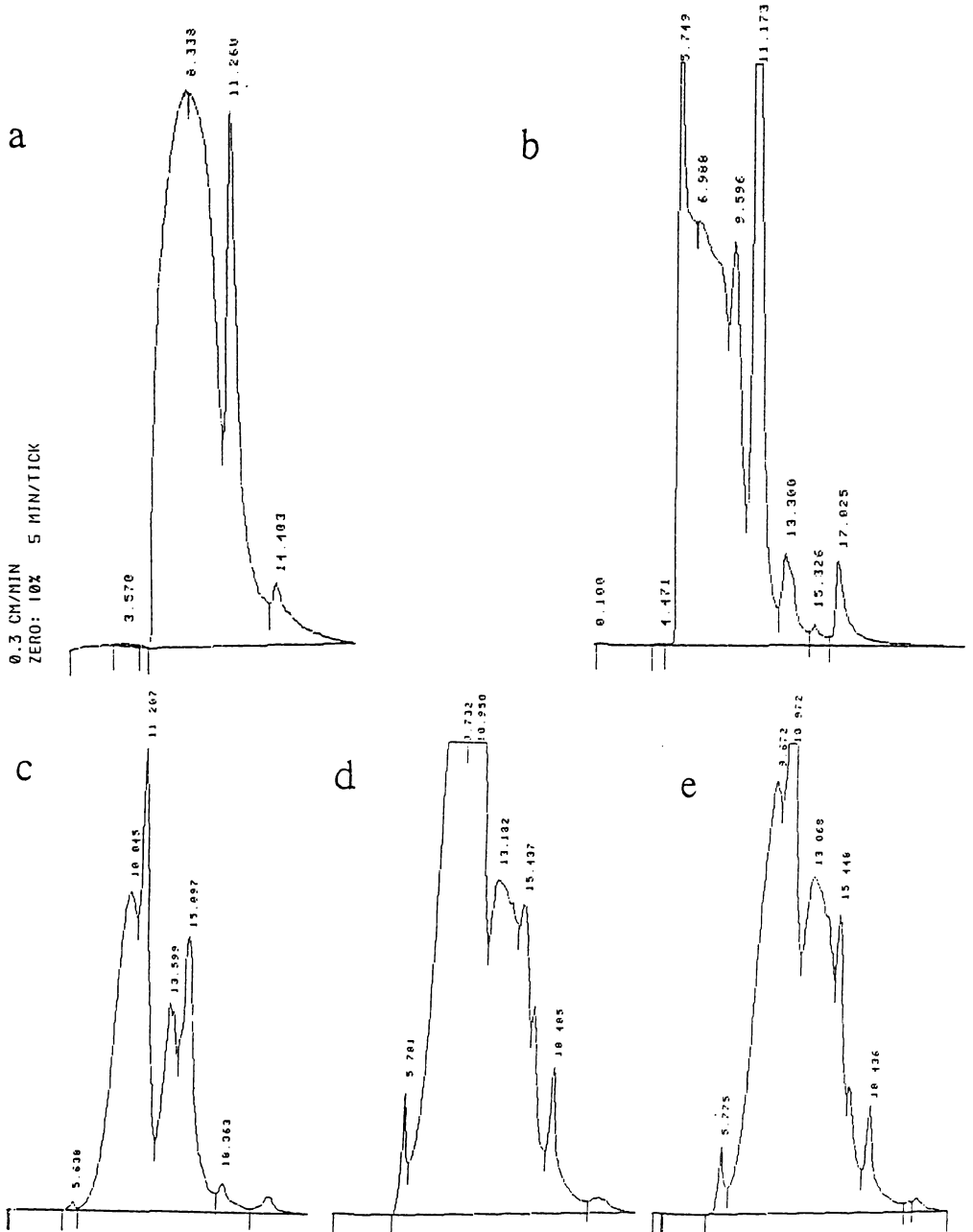


Figure 2 : Chromatogrammes d'HPLC de la solution d'Hb-Dex-BTC (a), de l'hémoglobine recueillie dans les vaisseaux à la mort du cobaye (b), dans les urines après 3h de survie (c), après 18h de survie (d) et après la mort du cobaye (e).

2) Evaluation pharmacotoxicologique

Les essais des différentes solutions ont révélé l'absence de substances toxiques, pyrogènes et hypotensives. Ces observations jointes aux caractéristiques physicochimiques satisfaisantes des solutions nous ont permis d'effectuer des expérimentations sur l'animal.

Les essais de détermination de la DL50 ne conduisent à aucune mortalité. L'évolution pondérale des souris et cobayes, au cours des trois semaines qui suivent l'injection massive du conjugué, est similaire à celle des témoins. La pesée des organes vitaux ne montre aucune différence par rapport aux témoins, excepté une faible diminution de poids chez la souris au niveau des reins, phénomène pour lequel nous n'avons actuellement aucune explication. Le volume biliaire est similaire à celui des témoins ce qui semblerait démontrer un fonctionnement normal du système hépato-biliaire quelque soit la solution.

Les essais de rémanence vasculaire et l'élimination urinaire du conjugué révèlent une amélioration considérable de la rétention vasculaire par rapport à la solution d'hémoglobine non modifiée de référence car 50% d' Hb-Dex-BTC est encore présents 420 ± 25 min (soit environ 7h) après l'injection contre 95 ± 5 min (n=5) pour l'hémoglobine non modifiée (figure 3). Les prélèvements urinaires au cours des deux premières heures de survie montrent uniquement la présence d'hémoglobine non conjuguée avec éventuellement des dimères d'Hb modifiée.

Les chocs hémorragiques à 50% du volume sanguin confirment les résultats précédents et permettent de constater l'efficacité de la restauration volémique par l'Hb-Dex-BTC sans toutefois la différencier des solutions témoins, la survie définitive étant obtenue dans chacun des cas.

Les chocs hémorragiques à 75% du volume sanguin conduisant à un hématokrite final inférieur à 0,10 l/l, et les exsanguinotransfusions totales où l'hématokrite final avoisine 0,01 l/l, mettent en évidence, à un degré différent, la capacité oxyphorique couplée à la capacité de restauration volémique. L'hémoglobine conjuguée semble oxygéner correctement l'organisme :

- dans les chocs à 75%, tous les animaux traités survivent définitivement alors qu'aucune survie n'est obtenue avec les solutions d'hémoglobine non modifiée ou l'albumine (tableau II).
- dans les exsanguinotransfusions totales, des survies de 10 min avec l'albumine humaine, de 13 h avec l'hémoglobine non modifiée et de 9 h à 3,5 j , soit 46 ± 35 h avec le conjugué Hb-Dex-BTC sont obtenus (tableau II). On observe donc une augmentation importante du temps de survie des animaux, période pendant laquelle ils présentent une activité motrice normale et s'alimentent.

La détermination de la qualité de l'hémoglobine extracellulaire (figure 2b) montre une

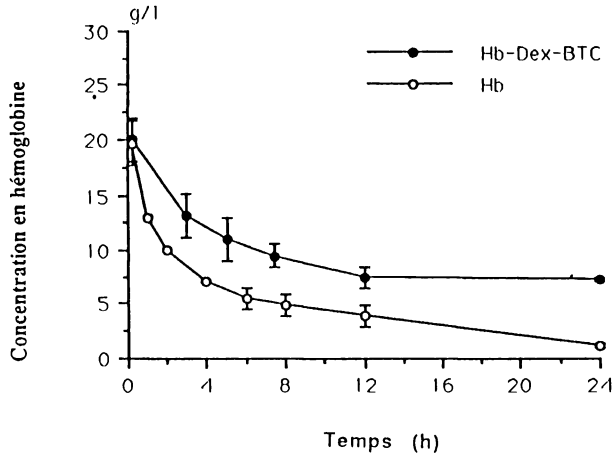


Figure 3 : Evolution de la concentration en Hb et en Hb-Dex-BTC extraérythrocytaire au cours du temps après surcharge volémique chez le cobaye (n=5, $\bar{x} \pm \text{SEM}$).

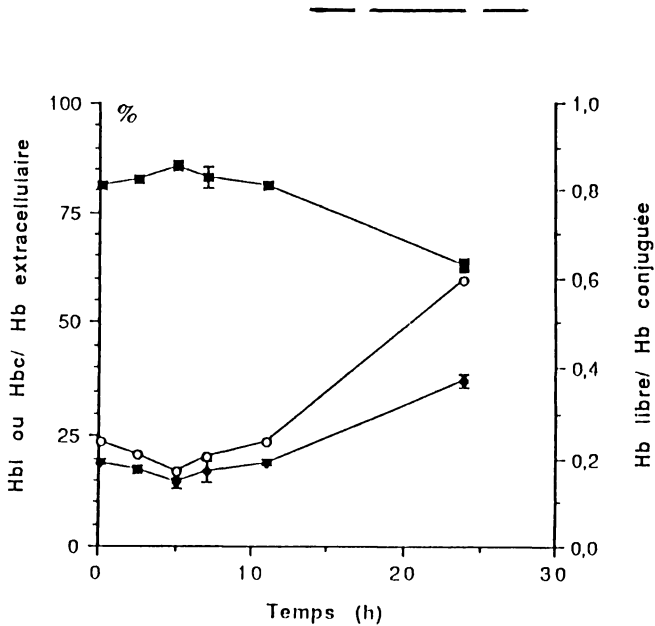


Figure 4 : Stabilité du couplage Hb-Dex-BTC in vivo. Evolution du pourcentage d'Hb libre (Hbl) et conjuguée (Hbc) extraérythrocytaire (à gauche -o-) et de leur rapport (à droite -•-), (n=5, $\bar{x} \pm \text{SEM}$).

<i>Essai sur le cobaye</i>	Hb-Dex-BTC 70 g/l	Hb non modifiée 70 g/l	Albumine 50 g/l
Hypotension	absence	absence	absence
Demi-vie plasmatique	420 ± 25 min n=3	95 ± 5 min n=5	18 jours (ref. 13)
Elimination urinaire % (Hb excrétée/Hb totale injectée)	5,5 à 6,9 n=3	30 à 58 n=3	/
Temps de survie choc hémorragique 75%	100% survie n=5	100% décès n=3	100% décès n=6
Exsanguinotransfusion totale	46 ± 35 h n=9	13 ± 2,7 h n=5	0,17 ± 0,13 h n=5

Tableau II : Principaux résultats pharmacologiques obtenus avec la solution d'Hb-Dex-BTC comparée aux solutions témoins.

bonne cohésion de la molécule après plusieurs heures de circulation. Cependant, le suivi de l'Hb conjuguée révèle une diminution nette de la proportion d'Hb libre dans un premier temps, puis une augmentation régulière mettant en évidence une rupture progressive de la liaison dextran/Hb (figure 4). Par heure de survie et sur un maximum de 70 heures, l'hémoglobinurie, exprimée en pourcentage par rapport à la quantité d'Hb intravasculaire au début de la survie, est de $2,9 \pm 0,9\%$ (n=5) dans le cas de l'hémoglobine non modifiée, pour seulement $0,45 \pm 0,26\%$ (n=9) pour le conjugué Hb-Dex-BTC, soit une élimination environ 6 fois moindre. Cette hémoglobine n'est pas ou très peu conjuguée comme on peut le constater sur les chromatogrammes de la figure 2 c, d et e, mais il semble apparaître, au cours du temps, une quantité croissante d'hémoglobine dimérisée voire dégradée comme l'observent également Keipert et al (15).

A l'autopsie des animaux, nous n'avons pas relevé d'hémoglobine dans les cavités abdominale et thoracique, ce qui semblerait démontrer -à l'inverse de l'Hb non modifiée- que le conjugué Hb-Dex-BTC ne diffuse pas ou peu à travers la paroi vasculaire.

L'analyse des autres paramètres mesurés au cours de la survie (ECG, rythme respiratoire, pression artérielle, gaz du sang ...) ne montre pas de différences entre les témoins et l'Hb-Dex-BTC.

Ces résultats confirment donc l'analyse physicochimique. Le conjugué d'Hb-Dex-BTC présente les caractéristiques nécessaires à une utilisation possible : il permet une bonne restauration volémique, une oxygénation tissulaire suffisante et ses fonctions sont assurées sur une période que l'on peut considérer comme prolongée puisque la demi-vie plasmatique avoisine 7 heures. L'augmentation de la quantité d'hémoglobine non modifiée dans le système vasculaire, démontrant une rupture progressive de la liaison

dextran/Hb, n'est pas néfaste puisqu'elle est modérée. De plus, des réinjections du produit peuvent être envisagées.

Il est à noter cependant que l'hémoglobine, modifiée ou non, est soumise à une oxydation dans le système vasculaire. L'augmentation du taux de méthémoglobine pourrait être responsable de certains décès essentiellement dans le cas d'exsanguino-transfusions totales puisque l'équipement enzymatique circulant permettant la réduction de la méthémoglobine (catalase, peroxydase, méthémoglobine-réductase...) a été soustrait. Les récents travaux de Den Boer et al (16) ainsi que ceux en cours au laboratoire tendent à confirmer cette hypothèse.

Conclusion

Ces premières évaluations de la solution d'hémoglobine conjuguée au dextran-BTC sont très encourageantes et laissent entrevoir ses réelles possibilités de substitut du sang potentiel. Cette solution est de préparation relativement aisée et celle-ci serait facilement transposable à l'échelle industrielle. Elle semble actuellement satisfaire aux buts qui étaient recherchés : permettre une restauration volémique, posséder une capacité oxyphorique et une rémanence vasculaire satisfaisante mais pas trop prolongée.

Il reste évidemment à confirmer ces premières évaluations et à mieux cerner les qualités de ce nouveau composé par d'autres tests physiologiques, en particulier sur les organes isolés qui renseignent davantage sur le comportement des solutions dans une partie de l'organisme, et à préciser sa stabilité dans le système circulatoire.

Travail réalisé en collaboration avec PASTEUR-MERIEUX Sérums et Vaccins, Marcy l'Etoile (Mr M. Grandgeorge).

Références

- 1- Labrude P., Vigneron C. Les succédanés du plasma utilisés en thérapeutique. *Le Moniteur Internat*, (5), 51-62, 1988.
- 2- Menu P. Préparation et évaluation de différentes solutions d'hémoglobine d'intérêt transfusionnel. Thèse Université, Nancy I, 123p, 1990.
- 3- Bakker J.C., Van Der Plas J., Bleeker W.K., De Vries Van Rossen A., Rigter G., Agterberg J. Properties of hemoglobin interdimensionally cross-linked with NFPLP. In : Chang T.M.S., Geyer R.P. eds, *Blood Substitutes*, Marcel Dekker, New York, 635-636, 1989.

- 4- Benesch R.E., Kwong S. Bis-pyridoxal polyphosphates: a new class of specific intramolecular cross-linking agents for hemoglobin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **156**, 9-14, 1988.
- 5- Feola M., Simoni J., Tran R., Canizaro P.C. The nephrotoxicity of hemoglobin solutions. In : Winslow R.M., Chang T.M.S., eds, *International Symposium on Red Cell Substitutes*, San Francisco, 35, 1989.
- 6- Sehgal L.R., Gould S.A., Rosen A.L., Sehgal H.L., Moss G.S. Polymerized pyridoxylated hemoglobin : a red cell substitute with normal oxygen capacity. *Surgery*, **95**, 433-438, 1984.
- 7- Fasan G. Etude de l'hémoglobine issue du fractionnement du sang placentaire et application à la production d'hémoglobine fonctionnelle. Optimisation de la préparation d'un conjugué hémoglobine-dextrane utilisable comme substitut sanguin. Thèse INPL, Nancy, 162p, 1990.
- 8- Ning J., Chang T.M.S. In vivo effects of stroma-free hemoglobin and polyhemoglobin on coagulation factors in rats. *Int. J. Art. Organs*. **13**, 509-516, 1990.
- 9- Pharmacopée française, Maisonneuse éd., Metz, 10^{ème} édition, 1972, suppl. 1987, toxicité anormale, V2.1.5.
- 10- Vigneron C., Dellacherie E., Faivre B., Menu P., Labrude P. Les substituts du sang à base d'hémoglobine chimiquement modifiée. In: Mainard D., Delagoutte J.P. et Merle M. eds, *Actualités en Biomateriaux*, Romillat, Paris, 56-86, 1990.
- 11- Labrude P., Mouelle P., Menu P., Vigneron C., Dellacherie E., Leonard M., Tayot J.L. Hemoglobin solutions coupled with polyethylene glycol 1900 : Preparation, purification, quality control and pharmacological trials by hemorrhagic shock. *Int. J. Art. Organs*, **11**, 393-402, 1988.
- 12- Drabkin D.L. The standardization of hemoglobin measurement. *Amer. J. Med. Sci.*, **217**, 710-711, 1949.
- 13- Evelyn K. A. et Malloy H. I. Microdetermination of oxyhemoglobin, methemoglobin and sulfhemoglobin in a single sample of blood. *J. Biol. Chem.*, **126**, 655-662, 1938.
- 14- Zetlaoui J. (coordinateur). Mise au point sur les substituts colloïdaux du plasma. *Lettre QS Anesthésie-Réanimation-Nutrition*, R. Bellon, Neuilly/Seine, n°12, 1988.
- 15- Keipert P.E., Gomez C.L., Gonzales A., Macdonald V.W., Winslow R.M. The role of the kidneys in the metabolic elimination of chemically modified human hemoglobin from rats. *Biomat. Art. Cells Immob. Biotech.*, **19**, 406, 1991.
- 16- Den Boer P.J., Bleeker W.K., Rigter G., Agterberg J., Stekkinger P., Kannegieter E.M., Bakker J.C. Intravascular reduction of methemoglobin in plasma of the rat in vivo. *Biomat. Art. Cells Immob. Biotech.*, **19**, 359, 1991.

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, B.P. 403, 54001 Nancy Cedex,
 * Ecole Nationale Supérieure des Industries Chimiques, Institut National Polytechnique de Lorraine, B.P. 451, 54001 Nancy Cedex, France.

La Modélisation Moléculaire *

Jean-Louis Rivail
Laboratoire de Chimie théorique - UA CNRS n° 510
Université de Nancy 1

La nécessité de prendre en compte la structure spatiale des molécules s'est imposée au 19ème siècle à la suite des travaux de Pasteur sur l'activité optique des molécules de synthèse et l'interprétation de Le Bel et van't Hoff conduisant à l'hypothèse du carbone tétraédrique qui est devenue depuis une certitude indiscutée. Ce n'est cependant qu'au milieu du vingtième siècle que les chimistes ont commencé à raisonner sur des modèles réalistes de molécules qui étaient, à l'origine, constitués de modèles matériels d'atomes et de liaisons assemblables à façon.

L'ordinateur a depuis peu supplanté en grande partie ces modèles peu pratiques, surtout pour les grosses molécules, grâce à ses facilités de calcul ainsi que grâce au développement des outils graphiques.

La modélisation moléculaire consiste donc d'abord à créer l'information structurale la plus réaliste possible, ce qui se fait au moyen de calculs prenant en compte de façon plus ou moins précise un nombre plus ou moins grand d'effets physiques gouvernant la forme et les déformations d'un édifice composé d'une ou plusieurs molécules. Une deuxième étape consiste à traiter cette information pour en donner une représentation graphique efficace. Celle-ci passe souvent par une simplification de l'image, débarrassée d'un excès d'information superflue. Il existe plusieurs niveaux de modélisation moléculaire qui dépendent de l'information recherchée et de la taille (nombre d'atomes) du système à traiter.

La mécanique moléculaire consiste en l'utilisation d'un champ de forces empirique, fondé sur une hypothèse de transférabilité de propriétés d'atomes et de liaisons. Une structure d'équilibre correspond à un minimum de l'énergie potentielle. Cette technique s'est révélée très utile, non seulement pour la représentation de molécules de taille importante, mais aussi pour l'analyse de structures macromoléculaires complexes, comme les protéines. Elle permet en outre de calculer l'énergie à dépenser pour déformer ces structures, et, partant, de caractériser la rigidité de ces édifices.

La dynamique moléculaire permet d'introduire la quatrième dimension, le temps. En effet, le champ de forces permettant de connaître les forces agissant sur les atomes écartés de leur position d'équilibre, il devient possible de simuler l'évolution dans le temps d'une structure d'énergie interne fixée, en résolvant à intervalles de temps réguliers, les équations de Newton. Cette technique permet en outre de calculer des grandeurs moyennes en faisant une statistique sur un intervalle de temps donné.

(*).Résumé de la conférence tenue à la séance du 02 avril 1992.

PROCES-VERBAL DE LA SEANCE DU 02 AVRIL 1992

-:--:-:--:-

A 17 heures le Professeur FLECHON, Président, ouvre la séance en présence de 25 personnes dans la Salle du conseil de l'Hôtel du District de l'Agglomération Nancéienne.

Etaient présents :

Mmes. KAYL, GRAND'EURY
MM. PIERRE, KELLER, MAUBEUGE, BERNA, TOMMY-
MARTIN, DELIVRE, COUDRY, KAYL, HUSSON, GALOTTE, HEYDORFF, GNEMMI,
CORNEVAUX.

Etaient excusés :

Mmes. BERNA, CLEVENOT, NONCLERCQ
MM. PHILIPPON, LE DUCHAT D'AUBIGNY, COEURDEROY.

Le Professeur FLECHON annonce l'admission de 22 nouveaux membres dont M. Bernard GUERRIER de DUMAST, Président du Technopole de Brabois et Mme WAGNER responsable de la bibliothèque universitaire.

Le Secrétaire Général, M. MAUBEUGE, fait circuler dans l'assemblée une brochure "Cartographie des orchidées des Ardennes par COULON et DUVIGNEAUD.

L'ordre du jour débute par une communication de MM. FORTHOFFER, GIROD et BREMONT du Laboratoire d'Electricité et Automatique de l'Université de Nancy I dirigé par le Prof. J. BREMONT, sur le sujet : "Apport du réseau de neurones pour une détection de contours par transformée en ondelettes".

La décomposition de l'image en ondelettes (ou fonctions oscillantes du signal) et sa modélisation par des réseaux de neurones formels permet la réalisation de contours codés qui réduisent de 1 à 1.000 le nombre de données. Le Dr. DELIVRE rapproche de ces schémas le fonctionnement des neurones biologiques qui font leur électricité et tirent leurs informations.

En remerciant les orateurs le Président explicite la différence entre les communications plus "pointues", faites par des chercheurs et les conférences plus longues qui mènent aux découvertes scientifiques en partant de données simples, accessibles à tous.

Le conférencier est le Prof. J.L. RIVAIL du Laboratoire de Chimie Théorique de l'Université de Nancy I, que le Président présente : Spécialiste de résonance nucléaire, créateur d'un DEA de chimie théorique, Directeur et Président de la section de chimie théorique à la Société chimique de France, dont les travaux ont reçu de nombreux prix de fondation de l'Institut.

L'exposé de l'orateur, qui traite de la modélisation moléculaire, va de pair avec la projection d'un diaporama où les deux premières vues sont consacrées à PASTEUR et à ses premières découvertes chimiques. Peu après, vers 1874, les chimistes LEBEL et VAN T'HOFF commencent la représentation spatiale à deux dimensions des molécules. Dans la décade 1950-1960, l'ordinateur permet la modélisation moléculaire (obtenue en quelques fractions de seconde) afin de simplifier l'information et permettre un raisonnement plus rapide. Ceci s'applique aux molécules organiques comme aux molécules minérales, comme, par exemple, la Zéolithe, fort demandée par l'industrie pétrolière. La modélisation électronique aboutit à une nouvelle représentation (la molécule est un ensemble de noyaux et d'électrons) et se révèle d'une grande utilité pour l'industrie. L'ordinateur, de moins en moins coûteux, remplace la main d'oeuvre et donne une image plus fouillée. Par contre, le logiciel, très cher, donne un rôle de plus en plus important au laboratoire de chimie théorique.

Le Prof. RIVAIL termine en citant et en remerciant les principaux des 30 collaborateurs du laboratoire pour leur concours dans la réalisation de tous ses travaux.

Le Président remercie le Prof. RIVAIL pour sa conférence si riche scientifiquement et même artistiquement : certaines représentations colorisées de molécules évoquant l'art moderne. Il signale les difficultés rencontrées dans la réalisation de réfrigérateurs utilisant la zéolithe et l'eau et s'informe de la vulgarisation des accumulateurs au lithium trop chers encore pour l'automobile.

A M. Pierre MAUBEUGE, toujours soucieux de l'utilisation de la langue française dans les publications scientifiques, le Prof. RIVAIL répond que les américains ne lisant que ce qui paraît en anglais, il donne lui-même un texte anglais, mais garde la langue française pour ses démonstrations.

La séance est levée à 19 heures.