



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN

THÈSE

Présentée à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE

Pour l'obtention du diplôme de :

DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité: Informatique

Par :

Mr BENOMAR Mohammed Lamine

Sur le thème

Combinaison adaptative des informations texture et couleur pour la segmentation d'images médicales

Soutenue publiquement le 09/05/2018 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr BENAMAR Abdelkrim	MCA	Université de Tlemcen	Président
Mr CHIKH Mohamed Amine	Professeur	Université de Tlemcen	Directeur de thèse
Mr BENZAOUZ Mourtada	MCA	Université de Tlemcen	Co-directeur de thèse
Mr DESCOMBES Xavier	Professeur	INRIA – Université côte d'Azur France	Examineur
Mr RAHMOUN Abdellatif	Professeur	ESI SIDI BELABBES	Examineur
Mme TAGHEZOUT Noria	MCA	Université ORAN 1	Examineur
Mr ABDERRAHIM Med ElAmine	MCA	Université de Tlemcen	Examineur

*Laboratoire Génie Biomédical (GBM)
BP 119, 13000 Tlemcen - Algérie*

*À mon père Djemai et à ma mère Nadia,
à ma femme Amel,
à mes enfants : Mohammed Wassim et Nihal,
à toute ma famille...*

Remerciements

Les travaux de recherche présentés dans ce manuscrit ont été réalisés au sein du laboratoire *GBM Génie Biomédical* de l'Université de Tlemcen en collaboration avec le *laboratoire I3S Informatique, Signaux et Systèmes* de l'Université de NICE et l'INRIA Sophia-Antipolis France. Je tiens pour cela à remercier sincèrement mon directeur de thèse, le Professeur *Amine CHIKH*, pour avoir dirigé mon doctorat et guidé mes recherches à travers ses remarques et conseils constructifs, avec des échanges toujours aussi riches et diverses.

J'adresse mes plus chaleureux remerciements au directeur de recherche, le Professeur *Xavier DESCOMBES* pour m'avoir accueilli au sein de son équipe de recherche MORPHEME INRIA (France). Je tiens à remercier également *M. Eric DEBREUVE* pour son encadrement et l'attention qu'il m'a toujours accordée pour acquérir des connaissances en imagerie médicale, je vous exprime ma gratitude.

Je remercie sincèrement mon co-directeur de thèse *M. Mourtada BENAZ-ZOUZ*, tout d'abord, de m'avoir introduit à ce domaine si riche dans mon mémoire de magister et d'avoir continué à me guider et m'orienter tout au long de mes travaux de thèse.

Je remercie *M. Abdelkrim BENAMAR*, Maître de conférence au département d'informatique de l'université de Tlemcen, pour avoir accepté de présider mon jury.

J'exprime ma profonde reconnaissance à *M. Abdellatif RAHMOUN*, Professeur à l'école supérieur d'informatique ESI de Sidi BelAbbes, *Mme Noria TAGHEZOUT* Maître de conférence à l'université d'Oran-1 et à *M. Mohamed ELAmine ABDERAHIM* Maître de conférence à l'université de Tlemcen, pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ce travail de thèse en acceptant de l'examiner et d'en être rapporteurs.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à tous les enseignants du département d'informatique de l'université de Tlemcen et spécialement ceux qui ont contribué à mon cursus, aux membres du laboratoire Génie Biomédicale GBM, le laboratoire I3S et spécialement les membres de l'équipe CREDOM : Ismahane, Nessma, Bechar et Mustapha, de l'équipe MORPHEME mes collègues et amis : Gaël Michelin et Arnaud, dont l'ambiance a donné une autre dimension à ce travail.

A ma Famille... j'adresse mes plus affectueux remerciements à mes parents depuis ma naissance à ce jour vous êtes toujours à mes côtés, vos précieuses valeurs et votre amour propre m'ont toujours guidés et me guideraient pour toujours, moi, mon frère et mes sœurs, notre expression de notre gratitude ne sera jamais à la hauteur de nos sentiments. A ma femme Amel et mes deux enfants Wassim et Nihal, votre soutien et votre présence m'a encouragé à continuer, je vous remercie du fond de mon cœur. Et à l'occasion un grand merci pour mon frère Samir et mes sœurs : Narimene, Assia et son mari Omar, Lydia et son mari Abdou, Soumia et son mari Ismail et ma petite sœur Ikram, vous êtes toujours présents pour me soutenir. Je remercie très sincèrement mes beaux-parents, Fethi et Amina, pour m'avoir toujours encouragé à continuer de progresser. Un clin d'œil à mes tantes, mes oncles et toute la grande famille.

Table des matières

Introduction Générale	13
1 Contexte et Motivation	13
2 Contribution	15
3 Plan de la thèse	16
I État de l’art	19
1 Cytologie sanguine et médullaire	20
1.1 Introduction	20
1.2 Hématologie et cytologie descriptive	21
1.2.1 Préparation des frottis (sanguin et médullaire)	21
1.2.2 Cytologie sanguine	23
1.2.3 Cytologie médullaire	27
1.3 Le traitement d’images dans le domaine médical	30
1.3.1 Les différentes technologies d’imagerie médicale	30
1.4 Présentation des données (images utilisées)	32
1.5 Traitement d’image cytologique	33
1.6 Conclusion	38
2 La Couleur et la Texture	39
2.1 Introduction	39
2.2 Les modèles de représentation de la couleur	39
2.3 Les espaces couleur	41
2.3.1 Les systèmes de primaires	41

<i>TABLE DES MATIÈRES</i>	5
---------------------------	---

2.3.2	Les espaces luminance-chrominance	44
2.3.3	Les systèmes perceptuels	47
2.3.4	Les systèmes d'axes indépendants	48
2.4	La Texture	51
2.4.1	Attributs Géométriques	52
2.4.2	Attributs basés sur la modélisation spatiale	53
2.4.3	Attributs spatio-fréquentiels	54
2.4.4	Attributs statistiques	55
2.5	Conclusion	60

II Approche adoptée pour la reconnaissance des globules blancs 61

3	Segmentation d'images	62
3.1	Introduction	62
3.2	Les différentes approches de segmentation	63
3.2.1	Méthodes basées contour (frontière)	63
3.2.2	Méthodes basées région	66
3.2.3	Approches Structurelles	72
3.2.4	Approche basée Forme	82
3.2.5	Théorie des Graphes	86
3.3	Intégration de la couleur et de la texture	87
3.3.1	Intégration implicite	88
3.3.2	Intégration successive	90
3.3.3	Intégration lors du processus de segmentation	92
3.4	Évaluation de la segmentation	93
3.4.1	Évaluation sans vérité terrain (non supervisée)	94
3.4.2	Évaluation avec vérité terrain (supervisée)	97
3.4.3	Une méthode d'évaluation adaptée à la cytologie	98
3.5	Approche de segmentation proposée	101
3.5.1	Prétraitement (pre-processing)	102
3.5.2	Segmentation	107
3.5.3	Résultats de la segmentation	115

<i>TABLE DES MATIÈRES</i>	6
3.6 Conclusion	120
4 Caractérisation et classification des cellules	122
4.1 Introduction	122
4.2 Caractérisation des cellules	123
4.2.1 Les attributs géométriques	123
4.2.2 Les attributs de texture	124
4.3 Classification des cellules	125
4.4 Résultats et discussions	126
4.5 Conclusion	133
Conclusion générale et perspectives	134

Liste des tableaux

1.1	WBC diamètres	25
1.2	Les proportions de présence des leucocytes sanguins	26
3.1	Résultats de segmentation floue (Fuzzy C-means) [Benomar, 2012]	69
3.2	Résultats de segmentation (classification pixellaire SVM)[Benazzouz et al., 2013]	71
3.3	Comparaison quantitatives des résultats de segmentation	119
3.4	Matrice de confusion de la segmentation	120
4.1	Diamètres des différents types de globule blanc	127
4.2	Les attributs extraits pour la classification des leucocytes	129
4.3	Matrice de confusion, classes précisions et précision globale	131

Table des figures

1.1	Les étapes de préparation du frottis sanguin	22
1.2	Aspect morphologique des polynucléaires et monocytes : (a) neutrophile, (b) éosinophile, (c) basophile, (d) monocyte	25
1.3	Aspect morphologique des lymphocytes : (a) lymphocyte, (b) plasmocyte	26
1.4	Aspect morphologique des globules rouges (Hématies)	27
1.5	Hématopoïèse	29
1.6	Image d'échographie obstétricale	31
1.7	Exemple d'images microscopiques de grossissement x100 : (a) Deux leucocytes , (b) Trois leucocytes	33
2.1	Le spectre des couleurs visibles [Lezoray, 2000]	40
2.2	Les classes de systèmes de représentation de la couleur [Vandenbroucke, 2000]	42
2.3	Représentation spatiale du modèle RVB	43
2.4	Variation du tri-stimulus RGB en fonction de la longueur d'onde	43
2.5	Variation du tri-stimulus XYZ en fonction de la longueur d'onde	44
2.6	La représentation spatiale du modèle L^*a^*b	47
2.7	La représentation spatiale du modèle HSL	47
2.8	Exemple d'une image cytologique RVB : a) image sans traitement, b) image après décorrélation et normalisation	50
2.9	Exemples de textures extraites de la base VisTex	52
2.10	Illustration du principe de calcul du LBP [Porebski, 2009]	54
2.11	Exemples de voisinages utilisés pour le calcul des LBP : (a) $V = 8, R = 1$ (b) $V = 16, R = 4$	55
2.12	Les 4 orientations θ	57

3.1	Classification des différentes méthodes de segmentation [Lecoeur and Barillot, 2007]	64
3.2	Illustration de la représentation multi-échelles d'une image	65
3.3	Modèles de contours, (a) Marche d'escalier : le contour est net (contour idéal), (b) Rampe : le contour est plus flou, (c) Toit : il s'agit d'une ligne sur un fond uniforme	66
3.4	Opérateurs dérivatifs, (a) profil du Contour, (b) norme du Gradient, (c) Laplacien	66
3.5	Structure d'un neurone artificiel	67
3.6	Résultat visuel : (a) image originale, (b) segmentation floue FCM, (c) vérité terrain [Benomar, 2012]	69
3.7	SVM : hyperplan optimal (en bleu) avec la marge maximale, les échantillons colorés sont des vecteurs supports	70
3.8	Résultat de segmentation (classification SVM) [Benazzouz et al., 2013] : (a) image originale, (b) image segmentée, (c) vérité terrain	71
3.9	résultat de segmentation [Benazzouz et al., 2017] : (a1,a2) : image originale, (b1,b2) : résultat noyau, (c1,c2) : region growing, (d1,d2) : résultat cytoplasme en jaune après soustraction ($c - b$) .	73
3.10	Segmentation LPE : (a) Image originale, (b) : Watershed lines, (c) : résultat de segmentation [Arslan et al., 2014]	74
3.11	Segmentation LPE : (a) Image originale, (b) Image binaire du résultat Watershed, (c) Image originale et les frontières cellulaires superposées [Putzu and Di Ruberto, 2013]	75
3.12	Image microscopique et l'image d'altitude associée	76
3.13	Principe de la Ligne de Partage des Eaux	76
3.14	Minima, bassins versants et ligne de partage des eaux [Vincent and Soille, 1991]	77
3.15	Barrages aux endroits où l'eau provenant de deux minima se mélangeraient [Vincent and Soille, 1991]	78
3.16	La distance géodésique entre deux point à l'intérieur d'un ensemble [Vincent and Soille, 1991]	78
3.17	Un ensemble de composantes connectées B_i et les 3 zones d'influence géodésique [Vincent and Soille, 1991]	79
3.18	Itération entre X_h et X_{h+1} [Vincent and Soille, 1991]	80

3.19	Résultat de segmentation Watershed : (a)Image Originale, (b) Image segmentée, (c) Vérité terrain	81
3.20	(a) processus de la LPE standard, (b) LPE contrainte par marqueurs	83
3.21	Méthode ondelette pour la segmentation : (a) Image originale, (b) Image niveau de gris, (c) Résultat de segmentation	84
3.22	Etape de segmentation : (a),(d) : noyaux segmentés, (b),(e) : Dilatation, (c),(f) : contour initial. [Rezatofighi and Soltanian-Zadeh, 2011]	85
3.23	Résultat de segmentation des noyaux des WBC [Dorini et al., 2013]	86
3.24	Exemple d'Hypergraphe	87
3.25	Construction d'un vecteur d'attributs couleur/texture. Une fenêtre de taille $w \times w$ de chaque composante couleur de l'espace CIE-Lab est filtrée par un filtre gaussien. Les valeurs obtenues pour chaque composante couleur sont stockées dans un seul vecteur [Yang et al., 2008]	89
3.26	Principe de l'algorithme Jseg	91
3.27	Exemple d'image cytologique (a) image réelle, (b) vérité terrain .	99
3.28	Exemple d'images microscopiques de cytologie : certains globules blancs sont entourés de contour blanc et les globules rouges en rouge	101
3.29	Système proposé pour le tri cellulaire en cytologie	102
3.30	L'intensité des pixels dans l'espace RGB par région d'intérêt . . .	103
3.31	Exemple d'une image cytologique RGB : a) image originale, b) Distribution des pixels RGB de l'image originale, c)Image améliorée (decorrelation stretching), d) Distribution des pixels RGB de l'image (c)	104
3.32	Ensemble d'images cytologiques : a) image originale, b) Image Decorrelation stretching	105
3.33	Résultat de decorrelation strech : (a) canal rouge, (b) canal vert, (c) canal bleu	106
3.34	Transformation couleur : (a) nouvelle image d'intensité, (b) Image après seuillage, (c) Masque binaire traité	107
3.35	Exemple d'image avec des artefacts : (a) image initiale, (b) image decorrelation strech, (c) masque binaire avec artefacts	107

3.36	Exemple d'image après pré-traitement : (a) image RVB initiale, (b) image decorrelation stretch, (c) masque binaire	108
3.37	Séparation de deux cellules accolées : (a) la fonction distance, (b) résultat LPE avec la carte de distance, (c) résultat LPE en combinant la carte de distance et d'intensité [Benomar et al., 2018] . . .	109
3.38	Exemple d'images avec artefacts : a) Image originale, b) Image decorrelation stretching	112
3.39	Distribution des attributs calculés à partir des régions segmentées ; Courbe Bleue : attributs globules blancs, Courbe Rouge : attributs artefacts	113
3.40	Image cytologique RGB : (a) Image initiale, (b) Image canal G d'une cellule, (c) Image canal a^* d'une cellule	114
3.41	Extraction des imagerie binaire	115
3.42	Exemple d'images de cytologie	116
3.43	Exemple de segmentation : (a) Image originale, (b) Segmentation proposée, (c) Vérité terrain	117
3.44	Étapes de segmentation : (a) Image originale, (b) Image decorrelation stretching, (c) Résultat de la transformation couleur, (d) Masque binaire après seuillage et amélioration, (e) Carte de distance, (f) Identification des marqueurs, (g) Cellules segmentées après la LPE contrainte par marqueurs et filtrage random forest, (h) Composantes connexes (rectangles rouges), (i) Séparation Noyau/Cytoplasme, (j) Résultat final de segmentation, (k) vérité terrain	118
3.45	Exemple d'images mal interprétées : (a) cellule déchiquetée par l'étalement, (b) cellule mal segmentée, (c) cellule coupée sur le bord de l'image [Benazzouz et al., 2013]	119
4.1	(a) Noyau segmenté, (b) Enveloppe Convexe, (c) Concavités . . .	124
4.2	Exemple d'image cytologique : (a) Image originale, (b) Vérité terrain	125
4.3	Architecture du système proposé pour le tri cellulaire	126

4.4	Aspect morphologique en microscopie optique des leucocytes : (a) monocyte, (b) lymphocyte, (c) neutrophile, (d) éosinophile, (e) basophile	127
4.5	Plasmocytes : (a,b,c) normaux, (d) dystrophique	128
4.6	Les histogrammes de huit attributs extraits sur un total de vingt attributs	128

Introduction Générale

L'informatique est considérée comme une technologie majeure dans le domaine de la recherche avec la publication d'un grand nombre d'articles notamment en traitement et analyse d'images numériques. En effet, le progrès des systèmes d'acquisitions de haute définition en parallèle avec les outils de diffusion et de communication utilisant de plus en plus d'images ont contribué au développement des systèmes d'aide à la décision dans des domaines divers (médical, industriel, météo . . .). L'objectif de ces systèmes est d'automatiser certaines tâches d'analyse et d'offrir aux utilisateurs une interprétation des images qui répond aux différentes attentes.

Un des plus grands domaines d'utilisation de l'imagerie numérique est la médecine où l'image est considérée comme un support et une source d'information indispensable aux praticiens en proposant de nouvelles mesures par des méthodes quantitatives et objectives. Par conséquent, de nombreux travaux dans la littérature ont été présentés pour la réalisation de systèmes informatiques aidant le médecin pour établir un diagnostic fiable et sécurisé, basés sur une chaîne de traitement et d'analyse d'images. Les principales étapes de cette chaîne sont la segmentation qui consiste à extraire les régions d'intérêts d'images, la caractérisation qui consiste à extraire des attributs sur ces régions et finalement la classification des objets extraits sur la base des caractéristiques obtenues dans la deuxième étape.

1 Contexte et Motivation

Le concept de pathologie numérique prend une place de plus en plus importante en permettant aux pathologistes non seulement d'établir des diagnostics pré-

cis mais aussi d'étudier l'évolution des maladies et vérifier l'efficacité des traitements notamment en cancérologie où les enjeux portent principalement vers une meilleure détection et prévention. Cette spécialité est basée sur l'aspect morphologique des lésions à partir de l'observation microscopique et l'extraction d'un large ensemble de mesures quantitatives.

On distingue deux types d'examens, l'examen histologique qui consiste en l'observation de la coupe microscopique d'un tissu et l'examen cytologique où les prélèvements sont étalés sur une lame puis fixés et colorés afin de reconnaître les différentes cellules présentes. Les lames offrent une visualisation unique des maladies et de leurs effets sur les tissus et les cellules puisque leur procédé d'acquisition préserve l'architecture du tissu. La lecture (screening) et l'analyse de ces lames se fait au microscope par le pathologiste dans le but soit de détecter des cellules anormales soit la quantification des cellules selon leurs types afin d'établir un diagnostic. Cet examen manuel est fastidieux, très long et demande énormément de concentration et d'expérience. Pour cela, la réalisation de systèmes informatiques est nécessaire non seulement pour assister le praticien et faciliter la lecture des lames mais également afin d'améliorer la rapidité et la fiabilité du processus de diagnostic et comprendre les mécanismes liés aux maladies.

Les principaux axes de recherches dans ce domaine sont basés sur le développement des systèmes automatiques pour l'analyse et l'interprétation des images médicales. Ces systèmes intègrent des techniques de traitement d'images, de l'intelligence artificielle et nécessitent une très bonne compréhension du domaine afin de reproduire les analyses faites par les experts et d'établir un diagnostic fiable. La plupart des systèmes intègrent les mêmes étapes d'analyse. Une première étape de prétraitement afin d'adapter et d'améliorer les images médicales en éliminant les défauts et le bruit provenant des capteurs lors de l'acquisition, suivie par une segmentation des régions d'intérêts ; ce sont des composantes cellulaires pour notre application. Finalement l'étape de classification et identification des cellules selon leurs types en utilisant des connaissances a priori sur les cellules.

Les travaux de recherches présentés dans cette thèse s'inscrivent dans le cadre d'un projet nationale PNR n 18, intitulé : *SARCY* (Développement d'un Système Adaptable pour la Reconnaissance des Cellules Cytologiques) mené par le laboratoire de recherche Génie Biomédical (G.B.M) de l'*Université de Tlemcen* et le

Service d'Hématologie du C.H.U de Tlemcen. Ce travail est dans la continuité des travaux de recherches des membres du projet.

Dans ce contexte, l'objectif de cette thèse consiste à proposer une chaîne complète de traitement et d'analyse d'images microscopiques pour améliorer le diagnostic, comprendre les maladies et gagner du temps. Ce système est appliqué à des images microscopiques couleur de cytologie sanguine et médullaire afin de segmenter les globules blancs (leucocytes) et extraire ses différents constituants à savoir les noyaux et les cytoplasmes. Ces cellules sont ensuite classées selon leurs types (neutrophil, eosinophil, basophil, monocyte, lymphocyte et plasmocyte) en exploitant l'information couleur, texture et forme. Les résultats de classification sont présentés au pathologiste afin d'établir son diagnostic, notons qu'un pourcentage élevé de cellules plasmocytes permet d'indiquer la présence d'un Myélome (maladie de Kahler) ou d'autres type de cancer.

2 Contribution

Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse concernent l'analyse des images cytologiques et donc de l'examen microscopique des cellules isolées afin d'étudier les manifestations d'une maladie. Il est important de bien reconnaître les différents types de cellules et leurs composantes afin d'établir un diagnostic fiable. Ainsi, l'étape de segmentation est cruciale dans un tel système puisqu'elle conditionne les étapes de caractérisation et de classification cellulaires. La première contribution de cette thèse s'inscrit dans une étape préliminaire de prétraitement des images microscopiques de cytologie sanguine et médullaire destiné à préparer et améliorer ces images couleurs [Benomar et al., 2018]. En effet, dans le domaine de microscopie cellulaire la couleur constitue une source d'information importante, nous proposons une nouvelle transformation couleur basé sur l'aspect colorimétrique des globules blancs sur la base du procédé de coloration MGG (May-Gründwald-Giemsa) où le noyau de la cellule présente de très faibles valeurs pour le canal vert de l'espace de représentation couleur RGB. L'idée de base de notre contribution réside dans la décorrélation des composantes colorimétriques (Red, Green, et Blue) de l'image originale en utilisant la méthode Decorrélation Stretching [Gillespie et al., 1986] par la suite nous appliquons notre

transformation sur cette nouvelle image d'intensité afin de mettre en évidence les régions d'intérêts, cette transformation supprime avec succès la quasi-totalité des pixels qui font partie des régions autre que les globules blancs tout en préservant l'intensité des pixels des cellules.

Dans la littérature, différentes approches de segmentation des images médicales sont proposées en intégrant des connaissances du domaine afin d'améliorer les résultats et trouver une solution générique pour résoudre ce problème, il est à noter qu'il n'existe pas une seule méthode de segmentation convenable à tous les domaines. Dans les méthodes de segmentation, la couleur et la texture sont utilisées de manières différentes, alternant entre une utilisation séparée de ces deux sources d'information ou une utilisation conjointe pour plus de robustesse et de précision. Notre deuxième contribution s'inscrit dans cette logique. Nous proposons un schéma de segmentation combinant l'information couleur et texture basé sur l'algorithme de la ligne de partage des eaux contrainte par marqueurs suivi par un classifieur de type forêts aléatoires. Par conséquent cette méthode est capable de s'adapter avec la complexité des images cytologiques et garantir des résultats performants même dans le cas de chevauchement des cellules.

L'objectif principal de notre troisième contribution, est la mise en place d'une méthode de caractérisation et de classification de six types de leucocytes, à savoir : neutrophile, basophile, éosinophile, monocyte, lymphocyte et plasmocyte. En effet, dans des travaux menés par notre équipe de recherche [Benazzouz et al., 2017, Baghli et al., 2017, Benazzouz et al., 2016, Benazzouz et al., 2013] seulement les cellules plasmocytes sont identifiées. Dans ce travail, l'identification des différents types de leucocytes s'appuie sur un ensemble d'attributs (couleur, texture et forme) liée à la description du médecin lors du processus de lecture visuelle des images microscopiques dans le but de reproduire ces analyses et descriptions. Les résultats obtenus montrent que la reconnaissance des leucocytes est prometteuse [Benomar et al., 2018].

3 Plan de la thèse

Cette thèse s'articule autour de deux parties en plus de cette partie d'introduction générale : une partie théorique composée de deux chapitres (correspondant

aux chapitres 1 et 2) et une partie applicative organisée en deux chapitres 3 et 4.

Nous commencerons ce manuscrit par le chapitre 1, en présentant le domaine de la cytologie sanguine et médullaire en commençant par les étapes de préparation des frottis, la coloration utilisée ainsi que la description des cellules présentes dans les images dont nous disposons. Dans ce même chapitre, nous consacrons une partie pour le traitement d'images dans le domaine médical, nous définissons alors brièvement les différentes technologies d'imagerie médicale suivi par une présentation des différentes étapes de traitement d'image cytologique avec une synthèse des travaux et méthodes utilisées dans la littérature en mettant le point sur les avantages et les inconvénients afin de situer notre contribution proposée dans cette thèse par rapport aux études déjà effectuées.

Dans un deuxième chapitre, nous présentons les modèles de représentation de la couleur et les différents espaces couleur utilisés pour représenter les différentes teintes du spectre lumineux. Pour cela, une synthèse des espaces classés en quatre familles selon leurs caractéristiques est exposée en soulignant principalement la méthode decorrelation stretching des images couleur qui sera utilisée par la suite dans l'étape de prétraitement de notre système automatique. Nous faisons également un état de l'art non exhaustif des différents attributs de la texture en insistant sur les principaux descripteurs utilisés dans la littérature.

Le chapitre 3, premier chapitre de la partie applicative de ce manuscrit, présente l'étape cruciale d'un système automatique d'aide au diagnostic médicale qui est la segmentation des images cytologiques. Les approches les plus couramment utilisées sont ici présentées et regroupées en cinq familles (contour, région, structurelle, forme et théorie des graphes), Nous insistons dans ce chapitre sur les méthodes de morphologie mathématique ainsi que les méthodes utilisant conjointement la couleur et la texture. Nous exposons une méthode d'évaluation de la segmentation adaptée au domaine de la cytologie. Nous passons ensuite à la présentation de l'architecture de notre système en expliquant pour chaque étape les techniques et les méthodes utilisées ainsi que les résultats obtenus.

Dans le dernier chapitre du manuscrit (chapitre 4), nous présentons une stratégie de caractérisation des cellules segmentées, basée sur des attributs de couleur, de texture et de forme des régions noyaux et cytoplasmes des globules blancs, dans le but d'identifier six type de cellules (neutrophile, basophile, éosinophile,

monocyte, lymphocyte et plasmocyte). Les descripteurs extraits serviront à un classifieur de créer un modèle de classification supervisée des cellules. À la fin de ce chapitre, nous exposons les résultats obtenus, les comparaisons et discussions.

Nous terminons le manuscrit par une conclusion générale de cette étude avec un résumé des contributions et résultats obtenus. Nous présentons les perspectives et les éventuelles améliorations.

Première partie

État de l'art

Chapitre 1

Cytologie sanguine et médullaire

1.1 Introduction

L'anatomie pathologique est l'étude morphologique des lésions dans le but d'établir un diagnostic médical. L'étude peut se faire à l'œil nu (anatomie pathologique macroscopique) soit au microscope où l'on examine des coupes de tissus colorées (Histopathologie) ou un étalement de cellules isolées (Cytopathologie).

Contrairement à l'histopathologie qui étudie les tissus entiers, La cytopathologie ou cytologie pathologique est une spécialité de la médecine qui étudie la composition microscopique des cellules à partir d'échantillons prélevé sur ou à l'intérieur du corps. Cette spécialité est généralement utilisée pour le diagnostic de cancers et des maladies sanguines à partir de la morphologie (normale ou pathologique) des cellules du sang et de la moelle osseuse.

Les travaux présentés dans cette thèse traitent de l'analyse des images cytologiques et donc de l'examen microscopique de cellules sanguines et médullaires. Dans ce qui suit, nous présentons les différents types de cellules et leurs morphologies, par la suite nous décrivons notre base d'images microscopiques utilisée dans le cadre de ce travail de thèse ainsi que d'autres technologies d'imagerie médicale. Finalement, nous introduisons l'aspect d'analyse et de traitement d'image cytologiques avec une sélection de travaux sur ce type d'image dans la littérature.

1.2 Hématologie et cytologie descriptive

L'hématologie est la spécialité médicale qui étudie principalement les maladies liées au sang et les organes hématopoïétiques^a : la moelle osseuse, les ganglions lymphatiques et la rate.

Le sang est le liquide biologique circulant dans les artères et les veines sous l'impulsion du cœur, il représente 8% du poids d'un individu normal (environ 5 à 7 litres). Il est constitué de plasma et de cellules sanguines qui sont synthétisées dans la moelle osseuse, ces cellules circulantes du sang sont de trois types : globules rouges (*érythrocytes*), globules blancs (*leucocytes*) et plaquettes.

La cytologie sanguine et médullaire concerne la reconnaissance morphologique des cellules du sang respectivement de la moelle osseuse normales et pathologiques, d'où il est important de bien reconnaître les différents types de cellules et leurs morphologies afin de bien comprendre les éléments constituant l'échantillon observé. Cette analyse intègre l'étape de préparation et de coloration des frottis médullaire et sanguin, ensuite l'acquisition d'images microscopiques couleurs. La suite de ce chapitre présente ces différents aspects et méthodes.

1.2.1 Préparation des frottis (sanguin et médullaire)

Cette première étape nécessaire pour observer au microscope la structure des cellules sanguines ou médullaires intègre la préparation des frottis, la coloration par la méthode *May-Gründwald-Giemsa (MGG)* ensuite la lecture et l'acquisition des images au microscope. Un échantillon doit avoir été préparé de sorte à respecter les étapes suivantes :

– Réalisation d'un frottis sanguin ou médullaire :

1. Dépôt d'une goutte de sang (respectivement de la moelle osseuse) sur l'une des extrémités d'une lame de verre, il est important que le sang ne soit pas en quantité excessive, sinon les globules rouges pourraient cacher les leucocytes (globules blancs), conformément à la Figure 1.1 ;

a. Hématopoïèse désigne l'ensemble des phénomènes qui concourent à la production et au remplacement des cellules sanguines

2. Mise en contact de la lamelle avec la goutte de sang, en maintenant un angle de 45° (voir Figure 1.1) ;
3. L'étalement de la goutte de sang avec un mouvement uniforme vers l'autre extrémité de la lame avec précaution pour ne pas avoir d'artefacts ou des trous. Le frottis ainsi réalisé et séché rapidement par agitation à l'aire (Figure 1.1) ;
4. Identification du patient (numéro) sur la tête du frottis.

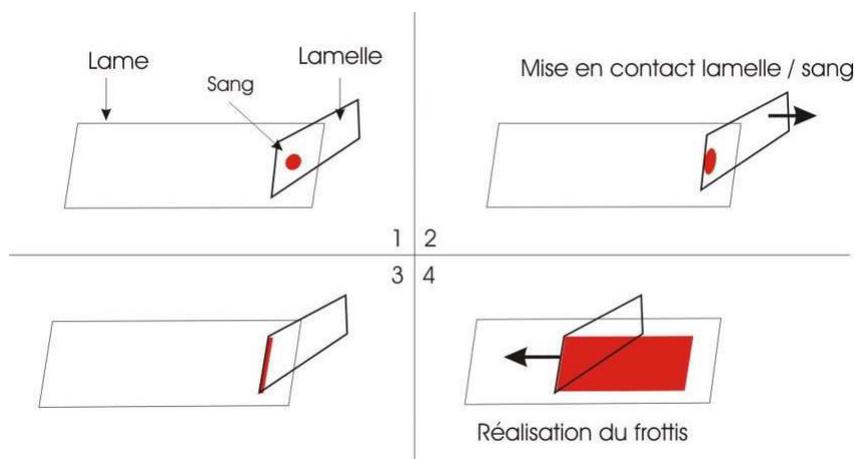


FIGURE 1.1 – Les étapes de préparation du frottis sanguin

- Coloration du frottis : En Hématologie pour différencier et compter les différentes populations de cellules, il faut d'abord les colorer. A cette fin, on utilise généralement la coloration *May-Grünwald Giemsa (MGG)*, c'est la coloration de *Pappenheim*, réalisée classiquement sur des frottis sanguins et médullaires. Cette technique est dite panoptique car tous les éléments cellulaires sont colorés de manière distincte. Il s'agit d'une combinaison de l'action de deux colorants neutres. Le *May-Grünwald* qui est composé d'un colorant basique, le bleu de méthylène, et d'un colorant acide, l'éosine. Le deuxième colorant *Giemsa*, qui est un mélange d'éosine et d'un autre colorant basique l'azur de méthylène. Les étapes de colorations sont :

1. Fixation et coloration par le *May-Grünwald* pendant 3 à 5 minutes, ce qui induit une coloration orthochromatique^b des éléments cellulaires

b. En chimie, le terme orthochromatique fait référence à un colorant qui ne change pas de

auxquels il se fixe (couleur rose ou orange pour les éléments acido-philés due à l'éosine et couleur bleue ou violette pour les éléments basophiles et neutrophiles due au bleu de méthylène) ;

2. Rinçage des frottis (à l'eau pH=7) ;
3. Coloration *Giemsa* pendant 20 à 30 minutes, ce qui induit une coloration métachromatique (couleur rouge pour les éléments azurophiles).

Au terme de cette étape de coloration, le cytoplasme des *lymphocytes* et des *monocytes* ainsi que les nucléoles apparaissent en bleu. Les granulations primaires en rouge-violet, les granulations des *éosinophiles* en rouge-orangé. La description morphologique qui suit est celle des cellules d'un frottis sanguin coloré par la méthode de *May-Grundwald-Giemsa*.

1.2.2 Cytologie sanguine

Le sang normal est composé de trois types de cellules circulantes : les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes qui ne sont pas considérées comme de véritables cellules.

Les globules blancs (Leucocytes)

L'ensemble de ces cellules (White Blood Cells) est chargé de défendre l'organisme contre les agressions extérieures (virus, microbes, ... etc), leur présence dans le sang est inférieure à celle des globules rouges. Il existe deux catégories de leucocytes : les polynucléaires et monocytes (fabriqués par la moelle osseuse) d'une part, les lymphocytes d'autre part (fabriqués par le tissu lymphatique).

- Les Polynucléaires se divisent en 3 types de cellules : neutrophiles, éosinophiles et basophiles. Ils ont une fonction phagocytaire (microphagocytes) et dénommés d'après l'aspect des granulations qu'ils contiennent dans le cytoplasme et qui prennent des couleurs particulières. La présence des granules et la forme du noyau condensé en petites masses (lobes) aident à distinguer entre ces différents types de cellules.

couleur en se liant à une cible, contrairement aux colorants métachromatiques qui changent de couleur

1. Les polynucléaires neutrophiles : caractérisées par leur noyau qui compte habituellement 3 lobes d'où leur nom de polynucléaire (Figure 1.2). La chromatine du noyau est hétérogène faite de masses denses et sombres séparées par des zones plus claires. Le fond du cytoplasme est très clair, rosé ou blanc, avec des granules dispersées et très fines. le diamètre moyen des cellules neutrophiles est de $12\mu m$, elles phagocytent très activement les bactéries.
 2. Les polynucléaires éosinophiles : Leur caractéristique principale est dans les granulations, celles ci sont bien individualisées, rondes comme des billes, tassées les unes contre les autres, habituellement de couleur rose orangée. Leur noyau comporte souvent deux lobes avec une chromatine moins dense. Ces cellules sont assez rare dans le sang (taux de 1 à 3%) est possèdent à peu près la même taille que les neutrophiles (Figure 1.2), attaquent les parasites et phagocytent les complexes antigènes anticorps.
 3. Les polynucléaires basophiles : ont un noyau polynucléaires (2 à 3 lobes) qui n'est presque jamais visible, caché sous de grosses granulations pourpres, presque noires, irrégulières et grossières qui recouvrent toute la cellule, ce qui donne à la cellule l'aspect d'une mûre (Figure 1.2). Les basophile sont très peu nombreux, on peut ne pas en rencontrer sur une lame de sang colorée. Les granulations contiennent de l'histamine et participent dans certaines réactions allergiques.
- Les Monocytes : sont des cellules phagocytaires, dénommés macrophage, issues d'une même lignée de la moelle osseuse que les polynucléaires. Ils jouent un rôle essentiel dans le premier stade d'une réaction immunitaire et ils sont les plus grandes cellules normales circulant dans le sang, leur taille peut être supérieure à $20\mu m$ (la table 4.1 présente l'ordre de grandeur des différents types de globules blanc). Leur aspect est très polymorphe, notamment leur noyau encoché mais non polylobé (compact et unique), il n'y a pas un noyau de monocyte qui ressemble à un autre. La chromatine du noyau est relativement homogène, de couleur rosée. Le cytoplasme est gris bleu, ne contient pas de grains sinon quelques uns, de diverses tailles, fins

WBC Type	Granulocytes			Agranulocytes	
	Basophil	Eosinophil	Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte
Diamètre (μm)	around 10	10-12	10-12	Small lymphocyte 7-8 Large lymphocyte 12-18	12-20

TABLE 1.1 – WBC diamètres

ou grossiers (Figure 1.2). Un caractère très particulier du monocyte est de contenir des vacuoles, zones vides arrondies, qui se situent aussi bien sur le noyau que sur le cytoplasme.

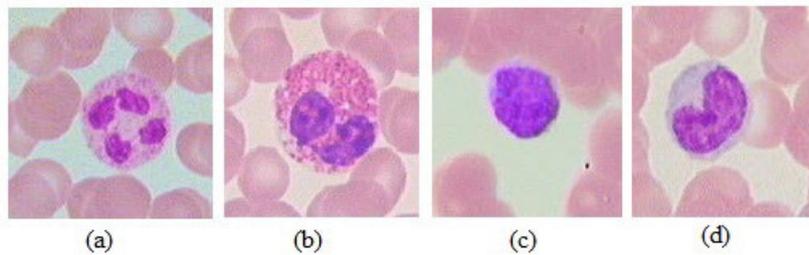


FIGURE 1.2 – Aspect morphologique des polynucléaires et monocytes : (a) neutrophile, (b) éosinophile, (c) basophile, (d) monocyte

- Les Lymphocytes : ils sont les cellules immunitaires par excellence contre les attaques de micro-organismes pathogènes comme les virus, bactéries, champignons et protistes. Les lymphocytes produisent aussi des anticorps et les disposent sur leur membrane. Il en existe de deux tailles et de deux aspects différents, les petits et les grands lymphocytes, mais cette distinction n'a guère d'intérêt pratique car les activités biologiques très diversifiées des lymphocytes ne sont pas corrélées à leur aspect morphologique. Généralement leur noyau a une forme circulaire compacte qui occupe presque toute la surface de la cellule avec un cytoplasme transparent, beaucoup plus réduit et dépourvu de granules, on les appelle aussi Agranulocytes (Figure 1.3). Les lymphocytes représentent environ 1/3 des leucocytes sanguins, la table 1.2 présente les proportions de présence, dans le sang, de chaque type de leucocytes.

Certains lymphocytes peuvent se transformer en plasmocytes dans le tissu lymphoïde (ganglions), dans le cas normal il n'y a pas de plasmocytes circulants dans le sang. Ces cellules ont des caractéristiques très spécifiques les

Type de cellule	Normes biologiques
Neutrophiles	de 50 à 70 %
Eosinophiles	de 2 à 4 %
Basophiles	0,5 à 1 %
Lymphocytes	20 à 40 %
Monocytes	3 à 8 %

TABLE 1.2 – Les proportions de présence des leucocytes sanguins

rendant reconnaissable par rapport aux autres cellules. Le plasmocyte est une cellule oblongue, en forme d'huître, arrondie à une extrémité et pointue à l'autre, de 15 à 20 μm de diamètre. Son noyau est ovalaire situé au pôle arrondi de la cellule. Le cytoplasme est habituellement abondant, très bleu. De nombreuses variantes morphologiques existent mais tous les plasmocytes ont en commun l'hyperbasophilie du cytoplasme et l'excentration du noyau (voir figure 1.3).

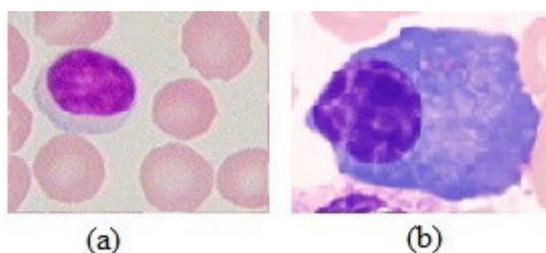


FIGURE 1.3 – Aspect morphologique des lymphocytes : (a) lymphocyte, (b) plasmocyte

Les globules rouges (Hématies)

Les hématies (ou érythrocytes) ont la forme d'un disque aplati, renflé à sa périphérie, de profil ils ressemblent à un pneu (voir figure 1.4). Ces des cellules sans noyau (anuclées) leur diamètre est d'environ 7 μm et leur volume de 90 μm^3 . La couleur des hématies est habituellement légèrement pourpre, plus pâle au centre. Les globules rouges jouent un rôle fondamental dans l'hématose, elles apportent aux tissus l'oxygène nécessaire à leur métabolisme et les débarrassent de leur gaz carbonique. La durée de vie moyenne des hématies est d'environ 120 jours. Une

fois arrivés à la fin de leur vie, ils sont retenus dans la rate où ils sont phagocytés par les macrophages [Tagliasacchi and Carboni, 1997].

Lors de l'analyse des images microscopiques, les hématies constituent une sorte de diapason pour le biologiste : d'une part leur diamètre constitue l'élément de comparaison pour estimer la taille des autres cellules sanguines (leucocytes et plaquettes), d'autre part leur couleur permet d'évaluer celle des autres éléments sanguins.

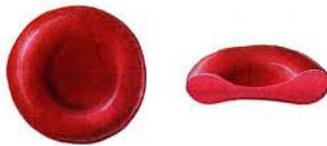


FIGURE 1.4 – Aspect morphologique des globules rouges (Hématies)

Les plaquettes (Thrombocytes)

Les plaquettes sanguines jouent un rôle essentiel dans l'hémostase, en libérant des facteurs favorisant la coagulation du sang pour arrêter le saignement au niveau des plaies. Ces cellules proviennent de la fragmentation du cytoplasme des mégacaryocytes médullaires (cellules de la moelle osseuse). Ce sont des petits éléments de 2 ou 3 μm de diamètre, arrondis ou triangulaires, sans noyau, contenant de fines granulations rosâtres. Leur densité est de 200 000 à 300 000/ mm^3 avec une durée de vie de 5 à 10 jours. Les plaquettes peuvent être isolées sur une lame colorée ou en amas, car elles ont une tendance à l'agrégation. Dans ce dernier cas il faut savoir les rechercher sur les bords de la lame ou en queue de frottis.

1.2.3 Cytologie médullaire

La moelle osseuse est l'organe le plus important et l'un des plus actifs tout au long de la vie, occupant tous les espaces intra-osseux à la naissance et progressivement elle se limite à quelques segments du squelette (côtes, sternum,...etc). Elle est le lieu de naissance des globules blancs, globules rouges et les plaquettes

sanguines, par l'intermédiaire de lignées cellulaires indépendantes, toutes issues d'une même cellule souche (l'hématopoïèse). On peut se reporter à la figure 1.5 pour mieux comprendre toutes les lignées des cellules sanguines.

La cytologie de la moelle normale est faite d'un grand nombre de cellules qui se répartissent essentiellement en trois lignées :

- Lignée Granuleuse : représentent environ 60% des cellules médullaires et aboutit à la formation des Polynucléaires (neutrophile, éosinophile et basophile).
- Lignée Erythroblastique : représente environ 20% des cellules médullaires et aboutit aux globules rouges (Hématies).
- Lignée Mégacaryocytaire (Plaquettaire) : représente un très faible pourcentage de cellules médullaires et qui donne naissance aux plaquettes (Thrombocytes) par fragmentation du cytoplasme des cellules géantes (Mégacaryocytaires).

On trouve de plus dans la moelle osseuse environ 20% de cellules blanches non granuleuses comprenant des monocytes, des lymphocytes et des plasmocytes (voir figure 1.5).

La composition cellulaire de la moelle osseuse est importante dans le diagnostic et la surveillance de nombreuses maladies et affections hématologiques. Les frottis médullaires permettent de faire un décompte différentiel des cellules, d'en étudier la morphologie et d'apprécier la cellularité médullaire globale.

La moelle osseuse est analysée par le *Myélogramme* qui se fait par aspiration (ponction) du suc médullaire à l'aide d'un trocart sur le Manubrium Sternal (partie supérieure du Sternum) qui est un des os plats restant le plus riche en moelle jusqu'à un âge avancé de la vie, ou bien en Crête-iliaque (notamment chez les enfants). Le suc médullaire aspiré est ensuite étalé pour réaliser des frottis qui sont ensuite séchés puis colorés par la technique *M.G.G* (May-Grunwald Giemsa).

L'observation du myélogramme au microscope se fait en deux temps :

- Lecture au faible grossissement : la première lecture commence toujours par l'examen des frottis à un faible grossissement (x10 ou x20) afin d'en déterminer la richesse globale, compter le nombre des cellules Mégacaryocytes et de choisir aussi le meilleur endroit étalé pour passer à la deuxième lecture, cet endroit de la lame ne doit comporter aucun artefact ou diffi-

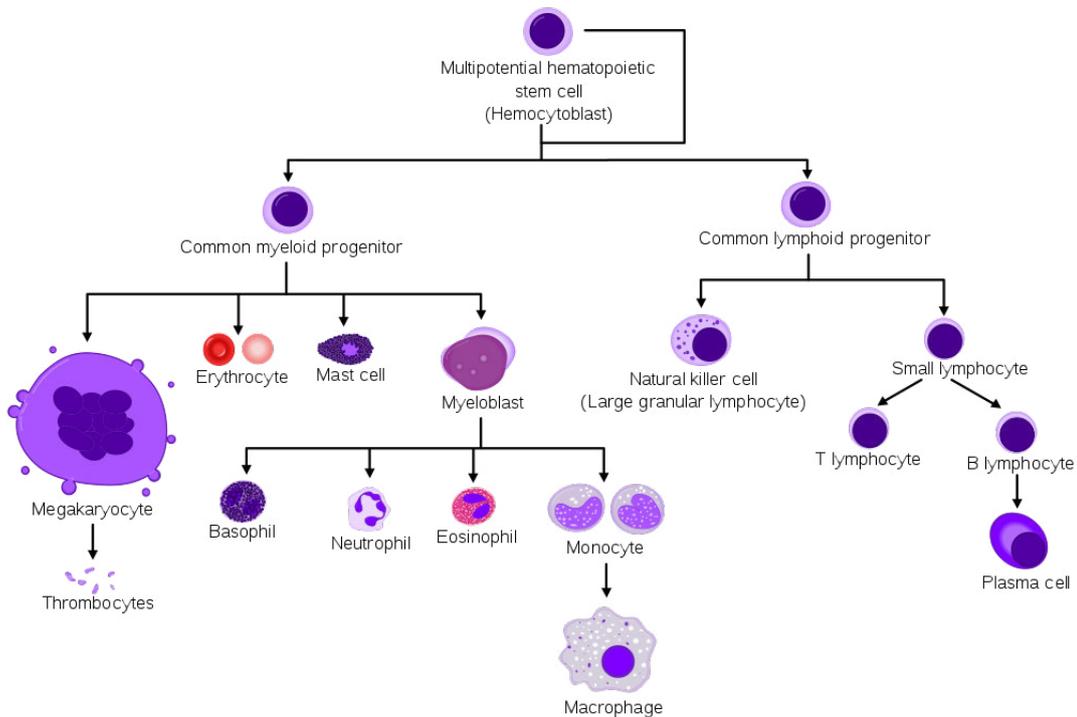


FIGURE 1.5 – Hématopoïèse

culté de lecture (cellules médullaires bien détachées, coloration normale et homogène, absence de rayures ou tache de colorant).

La richesse globale de la moelle osseuse comporte une cotation en 5 grades : de 0 (moelle désertique, quasi vide de cellules) à 4 (moelle très riche hyperplasique où les cellules granuleuses se touchent), avec les intermédiaires de 1 (moelle pauvre), 2 (moelle normale) et 3 (moelle un peu trop riche).

Les cellules Mégakaryocytes représentent moins de 0.001% dans les pourcentages du myélogramme. Cependant leur présence doit être attestée pour affirmer qu'une moelle est normale. Leur nombre est très faible par rapport aux autres cellules médullaires, il se situe aux alentours de 50 pour une moelle normale, au dessus de 100 elle est anormalement riche et au dessous de 10 à 15 la moelle est pauvre en mégakaryocytes.

- Lecture à l'immersion : il s'agit d'une lecture approfondie au grossissement x100 afin d'établir le décompte et le pourcentage des cellules médullaires.

Pour cela il faut compter au moins 200 cellules (plus de 400 en cas d'anomalies) et calculer le pourcentage pour chaque lignée médullaire, rédiger une conclusion avec un commentaire sur les éventuelles anomalies de répartition ou des anomalies morphologiques constatées.

1.3 Le traitement d'images dans le domaine médical

L'imagerie médicale est un domaine de la médecine de plus en plus étudié et utilisé non seulement pour un meilleur diagnostic médical (cancers, ...etc) mais aussi dans la recherche clinique pour comprendre le fonctionnement et percer le mystère de certains organes (Cerveau, ...etc) et la mise au point de nouveaux traitements. Il existe différentes techniques d'imageries médicales faisant appel à de nombreuses technologies développées grâce à l'exploitation des plus importantes découvertes de la physique (les ondes radio et rayon X, les champs magnétiques et la radio activité de certains éléments). Il existe différents types d'imageries médicales en fonction des zones et organes à étudier (radiologie, échographie, scanner, ...etc).

Le traitement d'images médicales [Abràmoff et al., 2004] est une branche du traitement de l'image qu'on retrouve dans de nombreux domaines applicatifs (IRM imagerie par résonance magnétique, Microscopie, Echographie,...etc). Son objectif principal est d'aider les médecins dans l'analyse et l'interprétation des données auxquelles ils sont confrontés au quotidien (visualisation, segmentation en régions, restauration des données, reconstruction d'images, analyse du mouvement, assistance au diagnostic,...etc).

1.3.1 Les différentes technologies d'imagerie médicale

Échographie

L'échographie est une technique d'exploration de l'intérieur du corps basée sur l'exposition de tissus à des ondes ultrasonores et sur la réception de leur écho selon la nature des tissus. Une sonde envoie un faisceau d'ultrasons dans la zone du corps à explorer, ces ondes traversent les tissus et y font écho différemment

avec plus ou moins de puissance selon la densité des tissus (plus un tissu est dense, plus l'écho est important), le traitement informatique de ces échos permet une visualisation des organes observés. Les différents types d'échographies sont classés selon les tissus examinés (échographie cardiaque ou échocardiographie, échographie mammaire, échographie obstétricale, ...etc). Ainsi, au cours de la grossesse l'échographie obstétricale permet d'observer le fœtus, de différencier les organes et squelette (voir figure 1.6) dans le but de suivre le bon déroulement de la grossesse et de détecter une éventuelle malformation.



FIGURE 1.6 – Image d'échographie obstétricale

Radiographie

Découverte il y a plus d'un siècle par le physicien *Wilhelm Conrad Röntgen*, la radiographie repose sur l'utilisation des rayons X qui ont la propriété de traverser les tissus de manière plus ou moins importante selon leur densité. La radiographie est utilisée pour explorer les os, les poumons, l'abdomen ou le système digestif. Ainsi, une source émettrice de rayon X est placée devant le corps et un détecteur (film) est placé à l'arrière du corps, les rayons vont traverser une certaine partie du corps et ils impressionnent le film radiographique, plus ou moins noirci en fonction de l'organe traversé, cela permet de différencier les os des muscles sur le cliché final.

Scanner

Aussi appelé *Tomodensitométrie*, est un examen qui repose sur le même principe que la radiographie (utilisation de rayons X et d'un détecteur). Le scanner

permet de réaliser la représentation d'organes en 3D grâce à une rotation simultanée de la source émettrice de rayon X et du détecteur autour du corps pour les projections intermédiaires en 2D des images en coupes fines qui sont traitées par informatique afin d'obtenir des images 3D. Ainsi, l'examen permet de déterminer précisément la localisation et l'étendue d'une lésion dans l'organisme.

Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

L'IRM est un examen qui permet de visualiser des détails et donne des informations sur des lésions qui ne sont pas visibles sur les radiographies standards, l'échographie ou le scanner. Cette technique repose sur les propriétés magnétiques des molécules d'eau qui composent à plus de 80% le corps humain en créant un champ magnétique puissant afin d'analyser la réaction des différents tissus, les données recueillies sont ensuite traitées par des logiciels afin d'obtenir des vues en 2D ou 3D de l'intérieur du corps avec une grande précision. Le développement de l'IRM a permis d'ouvrir des perspectives de compréhension et de recherche sur l'organe le plus complexe et le moins accessible du corps humain « le cerveau ».

1.4 Présentation des données (images utilisées)

Les frottis sont réalisés au service d'Hémobiologie du *C.H.U (Centre Hospitalo Universitaire) de Tlemcen* dans le cadre d'une collaboration avec le laboratoire *G.B.M (Génie Biomédicale) de l'université de Tlemcen*. Nous disposons d'une série de 06 lames, correspondantes à 06 patients différents, numérisées par un système *Leica*^c (microscope et caméra). Pour que les cellules soient visibles, les frottis sont colorés au M.G.G comme évoqué en section 1.2.1, par la suite l'observation des lames se fait soit au microscope directement, soit sur ordinateur une fois la lame numérisée.

Avant de s'intéresser à l'étude et l'analyse des cellules présentes sur une lame, une première étape de localisation d'une zone de lecture est à effectuer (faible grossissement x10). En effet, certaines zones du frotti (cellules entassées, rayures ou tache de colorant) n'ont aucun intérêt dans l'analyse cytologique et

c. Leica : fabricant Allemand réputé d'appareils photographiques et d'optiques.

n'apporteraient aucune information pertinente. Cette localisation permettra ensuite de procéder à la reconnaissance des différents types de cellules (sanguines, médullaires) en utilisant un grossissement plus fort (x100) et d'acquérir des images numériques pour un traitement ultérieur.

L'acquisition a permis la construction d'une banque de 87 images couleurs *RGB* (voir figure 1.7) au format *bmp* de dimension (1024 x 768) qui regroupe l'ensemble des images des 05 patients (base_1 : 22 images, base_2 : 27 images, base_3 : 17 images, base_4 : 15 images, base_5 : 6 images). Une partie de ces images a été utilisée pour construire une base d'apprentissage pour et l'autre pour une base de test.

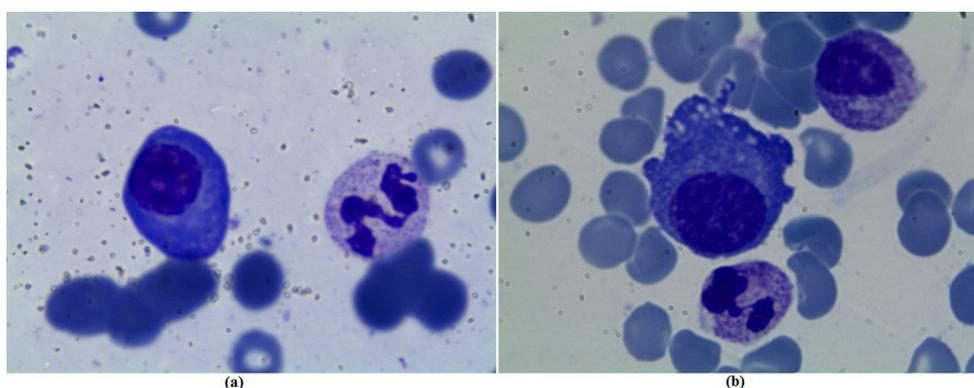


FIGURE 1.7 – Exemple d'images microscopiques de grossissement x100 : (a) Deux leucocytes , (b) Trois leucocytes

1.5 Traitement d'image cytologique

L'analyse morphologique du frottis sanguin ou médullaire pour les lignées leucocytaire (globule blanc) garde une place prépondérante dans le diagnostic des hémopathies (Leucémie, Myélome, ...etc), cette analyse est d'un intérêt capital car le diagnostic dépend de la bonne reconnaissance des cellules anormales ou suspectes. Cependant, la cytologie reste un processus relativement long demandant compétence et expérience d'un expert. Un système de reconnaissance des leucocytes et des principales anomalies morphologiques à partir des images microscopiques est indispensable. Un tel système est constitué de trois parties ou

étapes principales [OLIVIER, 1995] :

- La segmentation : qui consiste en l'extraction de régions adaptées au problème rencontré. Dans notre cas, on cherche à isoler les composants cellulaires.
- La caractérisation : ou l'extraction de caractéristiques à partir des éléments segmentés. Cela consiste à fournir les données représentatives de chaque cellule : forme, couleur, taille, texture ..etc.
- La classification : attribuer une classe (type) aux régions segmentées sur la base des caractéristiques de l'étape précédente. Cela consiste à trouver le type des leucocytes (neutrophile, basophile, ...etc).

Le traitement des images microscopiques de cytologie sanguine ou médullaire présente des spécificités que l'on ne retrouve pas systématiquement dans le domaine du traitement de l'image (l'ordre de grandeur des différents type de globule blanc présenté dans la table 4.1, différence de contraste entre le noyau et le cytoplasme, texture des cellules granulocytes et agranulocytes, ...etc). Ces connaissances du domaine doivent être combinées avec les techniques de traitement d'image afin de trouver une solution efficace. Bien souvent, ces techniques sont spécifiques à une unique application, étant donné la large variabilité notamment de procédures de marquage, de modalités d'imagerie et de conditions expérimentales.

La segmentation et la classification des globules blancs dans les images cytologique sont une part importante du traitement de ces images dans de nombreuses applications de recherche retrouvées dans la littérature. Certaines des approches les plus couramment utilisées sont ici présentées et regroupées en deux familles selon qu'elles se basent sur la détection des régions noyau seulement ou des deux régions noyau et cytoplasme.

La première approche consiste à segmenter d'abord les régions noyau des globules blancs, ensuite l'extraction des caractéristiques pour la classification des différents types de cellules (neutrophile, basophile, ...etc). [Theera-Umpon and Dhompongsa, 2007] proposent un système de classification des leucocytes dans des images médullaires, en utilisant seulement les caractéristiques du noyau. Ils partent de l'idée que la segmentation du noyau est plus facile que la segmentation de la cellule complète en particulier dans les images

médullaires où la densité des globules blancs est très élevée. Une classification des WBCs est ensuite effectuée en utilisant un classifieur bayésien et les réseaux de neurones avec un taux de classification de 77% sur les bases de tests.

[Huang and Hung, 2012] commencent par une transformation de l'image originale en combinant l'espace RGB (Red Green Blue) et HSV (Hue Saturation Value) afin d'améliorer le contraste des régions noyau et résoudre le problème de similarité entre les leucocytes (WBC) et les globules rouges. Cette transformation leur a permis de garder que les régions noyau et par la suite procéder à un seuillage (Multilevel Otsu thresholding) pour extraire les régions noyau. Dans l'étape de reconnaissance des cellules, une réduction de dimension du vecteur caractéristique avec l'analyse en composantes principales (ACP) est réalisée sur un ensemble de 85 attributs de texture et forme, un classifieur K-means basé sur une approche génétique est utilisé pour la classification de 05 types de cellules globules blancs (basophile, éosinophile, lymphocyte, monocyte, neutrophile).

[Madhloom et al., 2010] proposent une méthode de segmentation du noyau et considèrent que les caractéristiques du noyau sont suffisantes pour distinguer entre les différents types de leucocyte dans la majorité des cas (neutrophile, monocyte, éosinophile, lymphocyte et basophile). Pour la segmentation du noyau, ils utilisent une combinaison d'opérations arithmétiques sur l'image après une étape d'amélioration du contraste afin de détecter que les pixels noyau des cellules globules blancs lors du seuillage.

Dans la seconde approche, l'idée est de segmenter la cellule entière individuellement et par la suite séparer le noyau du cytoplasme. Récemment [Arslan et al., 2014] ont mis en place une segmentation des globules blancs dans les images du sang périphérique et de la moelle osseuse en exploitant les caractéristiques couleur et forme des cellules. Premièrement, ils transforment l'image couleur RGB vers un nouvel espace d'intensité basé sur le canal vert (Green) et le canal bleu (Blue) afin de rendre les pixels des régions globules blancs (WBC) plus distinguable. Par la suite, ils ont calculé la carte de distance sur un masque binaire de cette nouvelle image. Pour la partie segmentation, ils ont mis en œuvre un algorithme en deux étapes. Un seuillage *Otsu* est appliqué pour séparer les régions globules blancs (WBC) du fond suivi par l'algorithme des contours actifs pour dessiner les limites des cellules WBCs et supprimer les faux positifs. Enfin,

ils ont combiné la carte de distance et la nouvelle image d'intensité dans l'algorithme *Marker-controlled Watershed* pour séparer les cellules globules blancs. Il a été constaté que l'algorithme proposé améliore la performance de la segmentation des WBCs.

[Putzu and Di Ruberto, 2013] utilisent l'espace couleur CMYK (Cyan Magenta Yellow Key) comme les pixels des globules blancs sont plus contrastés dans le canal Y (yellow), suivi par une redistribution du niveau de contraste par la méthode Histogram Equalization et Contrast Stretching afin de simplifier le processus. Ils effectuent un seuillage basé sur la méthode triangulaire (*Zack algorithm*) afin d'éliminer le fond (plasma), ensuite ils ont eu recours à l'algorithme de ligne de partage des eaux (LPE) pour séparer les globules blancs groupées et extraire chaque cellule dans une imagerie. Après la segmentation des globules blancs, ils combinent le canal vert (Green) de l'espace RGB et le canal *a de l'espace CIELab pour extraire le noyau et une soustraction entre le noyau segmenté et l'imagerie pour obtenir le cytoplasme. Pour la phase classification des WBCs, ils calculent des attributs de forme et texture pour apprendre à un classifieur SVM les différentes classes de cellules.

Un système pour localiser les WBCs dans les frottis sanguins est proposé par [Prinyakupt and Pluempitiwiriawej, 2015], le concept de la segmentation est basé sur les propriétés morphologiques des globules blancs et la taille calibrée d'une cellule réelle par rapport à la résolution d'image. Le noyau et le cytoplasme ont été segmentés séparément afin d'extraire 15 attributs (couleur, texture et forme) pour l'étape de classification des WBCs en cinq classes différentes en utilisant un classifieur Bayésien naïf et un classifieur linéaire dans le but de comparer les résultats.

[Madhloom et al., 2012a] combinent des caractéristiques couleurs avec des opérations morphologiques pour localiser des globules blancs dans des images de sang périphérique et extraire chaque cellule séparément dans une imagerie. Dans la suite de leurs travaux, [Madhloom et al., 2012b] développent un système de reconnaissance automatique des cellules lymphocytes normales et anormales basé sur l'extraction et la sélection des caractéristiques de forme et texture et enfin l'identification des cellules.

[Rezatofghi and Soltanian-Zadeh, 2011] proposent un système permettant de classer cinq grands groupes de globules blancs (éosinophiles, basophiles, monocytes, lymphocytes et neutrophiles). Le noyau et le cytoplasme ont été segmentés en utilisant *Gram-Schmidt orthogonalization* et l'algorithme snake après l'étape de prétraitement. Des caractéristiques couleurs, formes et textures sont sélectionnées par la méthode SFS (Sequential Forward Selection). Pour l'étape de classification, ils ont comparé les résultats de deux classifieurs (ANN et SVM).

Une approche basée sur la texture (matrice de cooccurrence GLCM) pour l'identification des WBC a été présentée par [Sabino et al., 2004] après la segmentation du noyau et du cytoplasme des cellules globules blancs. [Ramoser et al., 2006] utilisent une transformation des couleurs et l'algorithme K-means pour la segmentation des WBCs. Différents caractéristiques couleurs et formes sont calculées pour la classification des cellules.

Dans la continuité de ce travail de thèse, nous avons proposé une approche basée sur les attributs de texture pour la segmentation des cellules [Benomar et al., 2014]. [Benazzouz et al., 2017] présentent une méthode d'identification des cellules plasmocytes dans des images médullaires en deux phases. Premièrement, l'extraction du noyau est effectuée par seuillage *Otsu* à partir du canal vert, puis l'algorithme de croissance de région avec un critère de circularité délimite les régions cytoplasmes. Dans la deuxième phase, plusieurs caractéristiques (texture, forme) sont utilisées avec un classifieur SVM sur un ensemble d'images vérité terrain et une base de test pour identifier les cellules plasmocytes.

Un schéma de segmentation utilisant la classification des pixels basée sur la fusion d'informations et la théorie d'évidence pour localiser les leucocytes dans des images microscopiques est présenté dans [Benazzouz et al., 2013, Baghli et al., 2014, Benazzouz et al., 2016].

Les travaux précédents (première approche) basés sur la segmentation des régions noyau seulement sont limités en considérant l'identification de différents types de cellules, ainsi le cytoplasme est essentiel pour la classification de plusieurs types de globules blancs. De plus, un grand nombre d'études dans la littérature montrent que la segmentation des cellules et l'extraction des caractéristiques sont les étapes les plus importantes dans le processus d'analyse des images microscopiques sanguines et médullaires.

1.6 Conclusion

L'imagerie médicale n'a cessé d'évoluer, de se perfectionner et de proposer des technologies de plus en plus précises, performantes et novatrices (Endoscopie, Scintigraphie,...etc). Les principaux axes d'amélioration et de développement concernent essentiellement :

- Des instruments et équipements plus puissant ;
- Des agents de contrastes plus efficaces ;
- Des plateformes d'imagerie multimodale et complémentaire ;
- Des nouveaux logiciels et algorithmes pour le traitement d'image.

Dans ce travail de thèse, deux principaux aspects du traitement d'images seront étudiés : la segmentation et la classification des cellules, basés sur une nouvelle transformation couleur, la texture et les propriétés morphologiques des globules blancs (White Blood Cells WBC).

Chapitre 2

La Couleur et la Texture

2.1 Introduction

L'utilisation de la couleur et de la texture comme source d'information dans des applications d'analyse d'image constitue un axe de recherche important dans la littérature et il est essentiel de rappeler leurs définitions et caractéristiques.

2.2 Les modèles de représentation de la couleur

Les travaux du médecin anglais *Thomas Young* en 1801 complétés et améliorés par *Hermann Von Helmholtz* en 1804 ont permis d'établir la théorie trichromatique (loi de *Young-Helmholtz*) et définir précisément la couleur qui est le résultat de la perception d'ondes de lumière sur la rétine qui possède trois cônes qui sont photorécepteurs sensibles au bleu, rouge et vert dont les longueurs d'onde comprises entre $380nm$ et $780nm$, la Figure 2.1 présente le spectre des couleurs visibles et continu, comme les transitions sont douces il n'existe pas de couleur véritablement appelée rouge, verte ou bleue. Ainsi, il est possible de créer la majorité des couleurs du spectre visible à partir de ces trois couleurs. Il s'agit du modèle de tri-stimulus qui est utilisé dans le codage des couleurs dans différents espaces couleurs, la *CIE* (Commission Internationale de l'Eclairage) a prouvé qu'il suffisait de trois variables indépendantes pour décrire presque toutes les couleurs existantes. Dans ce qui suit, nous allons présenter d'autres modèles de représentation de la

couleur puis nous verrons les espaces de représentation couleur les plus utilisés dans la littérature.

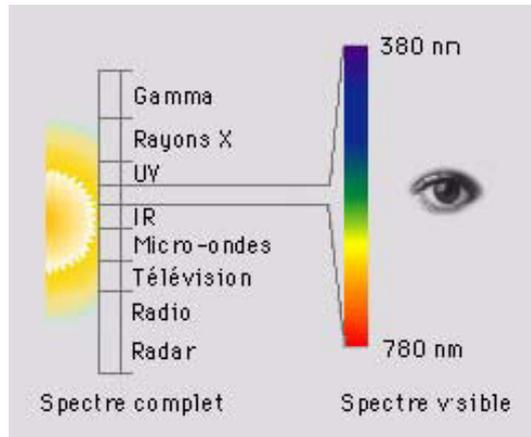


FIGURE 2.1 – Le spectre des couleurs visibles [Lezoray, 2000]

Le modèle des couleurs opposées : établi par *HERING* en 1880 basé sur le principe qu'il n'y a pas trois couleurs fondamentales, mais plutôt deux composantes chromatiques (correspondant respectivement à l'axe rouge-vert et l'axe bleu-jaune) et une composante achromatique (correspondant à l'axe blanc-noir représentant la luminosité).

Le modèle de FAUGERAS [Faugeras, 1979] : basé sur une combinaison du modèle des couleurs opposées et celui de tri-stimulus, vu que chacun représente un niveau d'abstraction différent. Le modèle est composé de trois parties. Une transformation de la lumière incidente en trois signaux dans un premier temps, suivi par une reproduction de la réponse spectrale des trois types de cônes par un opérateur logarithmique et enfin une transformation du tri-stimulus en deux composantes chromatiques et une composante achromatique.

Le modèle de PRATT [Pratt, 1978] : basé sur le fait qu'il est difficile de lier la perception humaine d'une couleur et les composantes dans un espace de couleur. Cependant, il est plus intuitif de parler de teinte T , de saturation S et de luminance L pour décrire une couleur.

2.3 Les espaces couleur

Différents espaces couleurs sont utilisés pour représenter les différentes teintes du spectre lumineux. Dans la suite de cette section, nous nous sommes basés sur les travaux de *Nicolas VANDENBROUCKE* [Vandenbroucke, 2000] pour classer les espaces couleur en quatre familles (Les systèmes de primaires, Les systèmes luminance-chrominance, Les systèmes perceptuels et Les systèmes d'axes indépendants) la Figure 2.2 synthétise les systèmes les plus utilisés selon leurs caractéristiques.

2.3.1 Les systèmes de primaires

L'espace de couleur RVB (RGB en anglais)

C'est un système additif basé sur la décomposition des couleurs en trois quantités des couleurs primaires (rouge, vert et bleu) en utilisant un système de coordonnées cartésiennes comme le montre la Figure 2.3 où la diagonale du noir (0,0,0) au blanc (1,1,1) représente les niveaux de gris (axe achromatique).

Il s'agit de l'espace le plus utilisé dans le domaine de l'imagerie couleur même s'il présente quelques inconvénients, à savoir :

- l'existence d'un grand nombre de système RVB [Vandenbroucke, 2000] ;
- les coordonnées et les composantes trichromatiques peuvent prendre des valeurs négatives (voir Figure 2.4) ;
- l'existence de couleurs non reproductible par addition des trois spectres ;
- deux stimuli de couleur peuvent avoir la même chrominance avec des composantes trichromatiques (R,G,B) différentes, à cause des composantes trichromatiques qui sont liées à la luminance.

Pour remédier à cet inconvénient et afin d'obtenir des composantes qui ne dépendent que de la chrominance, une normalisation des composantes trichromatiques par rapport à la luminance est définie comme suit :

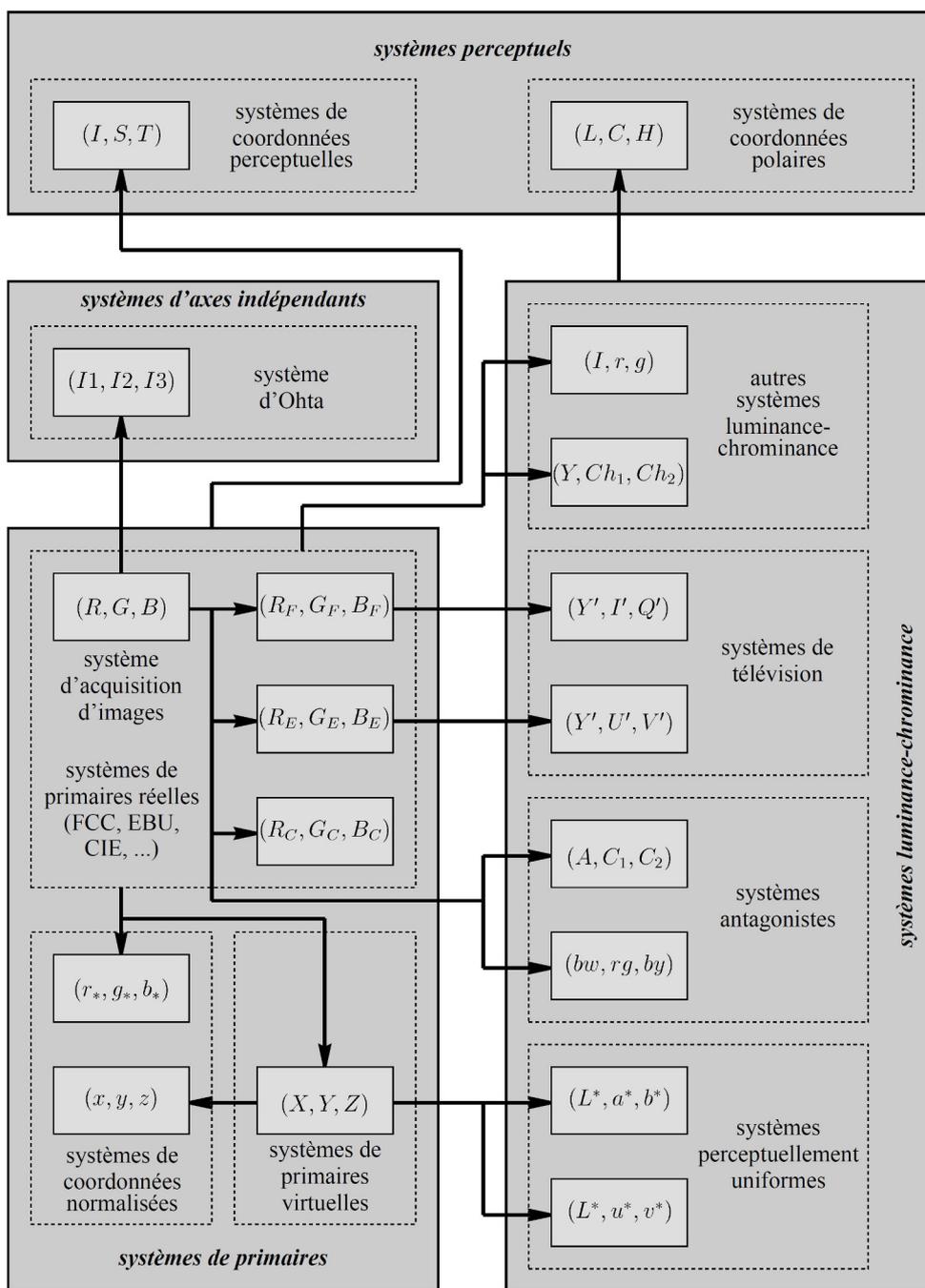


FIGURE 2.2 – Les classes de systèmes de représentation de la couleur [Vandenbroucke, 2000]

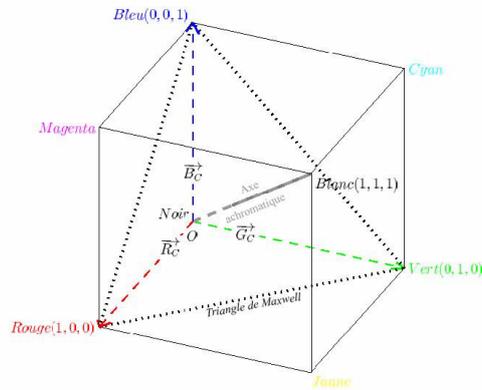


FIGURE 2.3 – Représentation spatiale du modèle RVB

$$\begin{cases} r_C = \frac{R_C}{R_C + G_C + B_C} \\ g_C = \frac{G_C}{R_C + G_C + B_C} \\ b_C = \frac{B_C}{R_C + G_C + B_C} \end{cases}$$

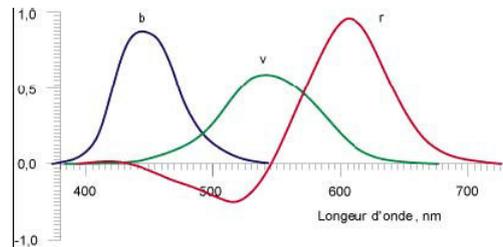


FIGURE 2.4 – Variation du tri-stimulus RGB en fonction de la longueur d'onde

L'espace de couleur XYZ

Pour remédier aux inconvénients du système RVB et la présence de valeur négative de la composante R, la CIE a introduit en 1931 cet espace nommé XYZ qui dépend linéairement du système RVB et qui ne contient pas de valeurs négatives comme l'illustre la Figure 2.5. Ainsi, les trois composantes primaires X, Y et Z sont obtenues par une simple transformation linéaire décrite dans l'équation

suivante :

$$\begin{bmatrix} X \\ Y \\ Z \end{bmatrix} = P \times \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X_r & X_g & X_b \\ Y_r & Y_g & Y_b \\ Z_r & Z_g & Z_b \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix}$$

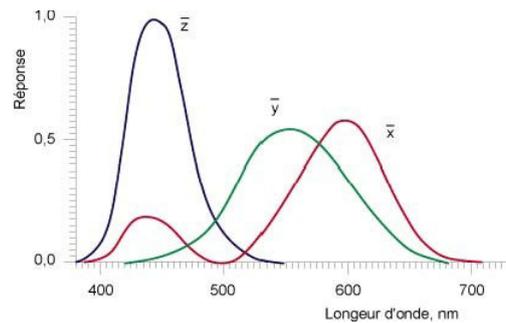


FIGURE 2.5 – Variation du tri-stimulus XYZ en fonction de la longueur d'onde

La matrice de passage P est déterminée par rapport à un blanc de référence. Pour l'illuminant E^a normalisé par la *CIE*, la transformation colorimétrique entre l'espace XYZ et l'espace RVB est donnée par :

$$\begin{bmatrix} X \\ Y \\ Z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 2.7690 & 1.7518 & 1.1300 \\ 1.0000 & 4.5907 & 0.0601 \\ 0 & 0.0565 & 5.5943 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix}$$

2.3.2 Les espaces luminance-chrominance

L'espace $L^*u^*v^*$

proposé par la *CIE* en 1976 afin de remédier au problème de manque d'uniformité de perception dans l'espace XYZ où deux couleurs à la même distance d'une autre ne sont pas nécessairement perceptuellement équidistances. Pour pallier à cet inconvénient, le modèle $L^*u^*v^*$ est perceptuellement uniforme où deux couleurs A et B sont aussi proches entre elles que deux autres couleurs C et D ,

a. Illuminant E : il représente une lumière d'énergie constante. Il ne correspond à aucune source lumineuse réelle et de ce fait ne reste que théorique. Les fonctions colorimétriques de la *CIE* sont obtenues en référence à cet illuminant.

alors la différence perçue entre A et B sera équivalente à celle perçue entre C et D . Les équations de passage de l'espace XYZ à ce nouveau espace $L^*u^*v^*$ sont [Lezoray, 2000, Meurie, 2005] :

$$L^* = 116 \times \left(\frac{Y}{Y_0}\right)^{\frac{1}{3}} - 16 \quad \text{Si} \quad \frac{Y}{Y_0} > 0.008856$$

$$L^* = 903.3 \frac{Y}{Y_0} \quad \text{Sinon}$$

$$u^* = 13 \times L^*(u' - u'_0) \quad \text{avec} \quad u' = \frac{4X}{X + 15Y + 3Z} \quad \text{et} \quad u'_0 = \frac{4X_0}{X_0 + 15Y_0}$$

$$v^* = 13 \times L^*(v' - v'_0) \quad \text{avec} \quad v' = \frac{9X}{X + 15Y + 3Z} \quad \text{et} \quad v'_0 = \frac{9X_0}{X_0 + 15Y_0}$$

Où :

- L : mesure la luminance ;
- u^* et v^* : la chrominance de la couleur (respectivement l'opposition de couleur vert-rouge et l'opposition de couleur bleu-jaune) ;
- X_0, Y_0, Z_0 : les coordonnées XYZ de l'illuminant (blanc de référence) .

L'espace L^*a^*b

Durant la même année (1976) la CIE a proposé un autre système perceptuellement uniforme appelé L^*a^*b (CIE 1976 Lab) basé sur le modèle des couleurs opposées, ça représentation spatiale est donnée par une sphère tout comme celle de l'espace $L^*u^*v^*$ (voir Figure 2.6). Les équations permettant de passer du système XYZ au L^*a^*b sont :

$$L^* = 116 \times \left(\frac{Y}{Y_0}\right)^{\frac{1}{3}} - 16 \quad \text{Si} \quad \frac{Y}{Y_0} > 0.008856$$

$$L^* = 903.3 \frac{Y}{Y_0} \quad \text{Sinon}$$

$$a^* = 500 \left(f\left(\frac{X}{X_0}\right) - f\left(\frac{Y}{Y_0}\right) \right)$$

$$b^* = 300 \left(f\left(\frac{Y}{Y_0}\right) - f\left(\frac{Z}{Z_0}\right) \right)$$

$$\text{avec} \quad f(x) = x^{\frac{1}{3}} \quad \text{si} \quad x > 0.008856 \quad \text{et} \quad f(x) = 7.787x + \frac{16}{116} \quad \text{sinon}$$

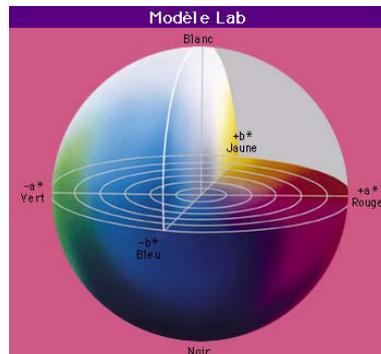
Où :

- L^* : représente la luminance avec une valeur entre 0 (noir) et 100 (blanc) ;
- a^* : mesure l'opposition rouge-vert avec une valeur positive si la couleur contient du rouge, négative si la couleur contient du vert et nulle si aucun des deux, la variable a^* est entre -100 et +100 ;
- b^* : mesure l'opposition jaune-bleu avec une valeur positive si la couleur contient du jaune, négative si la couleur contient du bleu et nulle si aucun des deux, la variable b^* est entre -100 et +100 ;
- X_0, Y_0, Z_0 : désignent les coordonnées XYZ de l'illuminant comme dans l'espace $L^*u^*v^*$.

L'espace $L^*a^*b^*$ comme pour l'espace $L^*u^*v^*$, permet d'évaluer la différence colorimétrique entre deux stimulus de couleur. Ceci revient généralement à calculer la distance euclidienne entre deux points dans l'espace de représentation :

$$\Delta E_{a^*b^*} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

$$\Delta E_{u^*v^*} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta u^*)^2 + (\Delta v^*)^2}$$

FIGURE 2.6 – La représentation spatiale du modèle L^*a^*b

2.3.3 Les systèmes perceptuels

L'espace HSL

basé sur le modèle de *Pratt* qui définit les trois grandeurs de Teinte, Saturation et Luminance. Ainsi, la teinte (Hue) est la longueur d'onde prédominante, la saturation (S) correspond au niveau de coloration d'une surface indépendamment de sa luminance et la luminance (L) qui représente l'intensité de la couleur. La Figure 2.7 donne une représentation spatiale de cet espace qui est obtenu à partir de l'espace RVB par la transformation suivante :

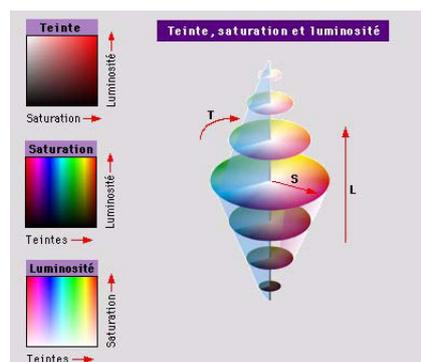


FIGURE 2.7 – La représentation spatiale du modèle HSL

$$H = a \times \cos \left(\frac{(R - V) + (R - B)}{2\sqrt{(R - V)^2 + (R - B)(V - B)}} \right)$$

$$\implies \text{Si } V < B : H = 2\pi - H$$

$$S = 1 - \frac{3 \times \min(R, V, B)}{L}$$

$$L = R + V + B$$

Notons que deux couleurs perceptuellement proches peuvent avoir des valeurs de H et de S très différentes à cause de la non-linéarité des équations de calcul de H et S qui provoque des discontinuités dans les valeurs. Ainsi aux singularités de H pour les points achromatiques (R=V=B) et de S pour le noir (R=V=B=0).

2.3.4 Les systèmes d'axes indépendants

Les trois composantes de l'espace RVB sont fortement corrélées en raison de la présence de l'information luminance dans chaque composante. Pour pallier à cet inconvénient, plusieurs auteurs ont cherché à définir des systèmes de représentation avec des composantes décorréelées et qui portent des informations différentes et non redondantes. Une des solutions à ce type de problème consiste à utiliser l'Analyse en Composantes Principales (ACP) en appliquant la transformation de *KARHUNEN et LOÉVE* [Savoji and Burge, 1985].

L'ACP est une méthode d'analyse de données, son but est d'obtenir un espace de représentation réduit avec des composantes décorréelées appelées composantes principales. Dans notre cas, les données sont les composantes colorimétriques d'une couleur représentée dans l'espace RVB. Il s'agit de calculer les valeurs propres et d'extraire les vecteurs propres correspondants notés respectivement : λ_i et ω_i , ainsi le calcul des nouvelles composantes X_i , se fait par la relation : $X_i = \omega_i [R \ V \ B]^T$.

Dans le domaine de traitement d'image, l'ACP est aussi utilisée comme une technique de réduction de dimension ce qui provoque une perte d'information. Néanmoins, l'ACP procède de façon à ce que cette perte soit la plus faible possible. De plus, la valeur propre correspondant à la première composante est maxi-

male, ce qui signifie que cette composante porte le maximum d'information est donc la plus discriminante.

Ainsi, différents auteurs tentent de déterminer des systèmes d'axes indépendants par l'approximation de la transformation de *KARHUNEN-LOEVE*. C'est le cas de l'étude réalisée par *Ohta* en 1980 [Ohta et al., 1980] basée sur le modèle du tri-stimulus et la transformation de *KARHUNEN et LOÉVE* afin d'introduire un nouvel espace nommé $(I_1 I_2 I_3)$ pour une meilleur segmentation. Le passage de l'espace RGB à cet espace est défini par les équations suivantes :

$$I_1 = \frac{(R + V + B)}{3}, \quad I_2 = \frac{(R - B)}{2}, \quad I_3 = \frac{(2V - R - B)}{4}$$

Gillespie [Gillespie et al., 1986] propose la méthode *Decorrelation Stretch* (allongement-décorrélation) basée sur la transformée de *KARHUNEN et LOÉVE*, permettant d'éliminer la corrélation et d'accentuer les différences entre les composantes colorimétriques des images couleur. Ce procédé est réalisé en quatre étapes. La première étape consiste en l'extraction des composantes principales, suivi par une projection le long des axes principaux. Une fois les pixels projetés dans cet espace, les composantes sont normalisées par leurs variances. Finalement, une transformation inverse est appliquée pour ramener les vecteurs normalisés dans l'espace RGB initial, cette transformation préserve la cohérence des teintes de l'image et maximise les différences de couleur.

Dans la première étape, il faut calculer les valeurs propres et les vecteurs propres de la matrice de corrélation qui est déterminée entre les canaux RVB à partir des pixels de l'image initiale. Après la définition de la matrice de covariance *COV*, la matrice de corrélation *CORR* s'exprime de la manière suivante :

$$\left\{ \begin{array}{l} CORR = \begin{bmatrix} CORR_{1,1} & \dots & CORR_{1,3} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ CORR_{3,1} & \dots & CORR_{3,3} \end{bmatrix} \\ CORR_{i,j} = \frac{COV_{i,j}}{(COV_{i,j} * COV_{j,i})^{1/2}} \end{array} \right.$$

Une projection des pixels de l'image initiale dans un nouvel espace où les

composantes colorimétriques sont décorréliées à l'aide de la matrice ROT composée des vecteurs propres de la matrice $CORR$. Un vecteur de normalisation Ω composé des inverses des racines carrées des valeurs propres de la matrice $CORR$ est défini, ce qui correspond aux écarts-types des informations projetées sur les vecteurs propres de la matrice de corrélation. Ainsi, la transformation T est définie comme suit : $ROT^T\Omega ROT$.

Une première application de la transformation T est d'abord réalisée sur le vecteur composé des niveaux moyens des trois composantes R, V et B. Ce qui va déterminer les décalages nécessaires pour recadrer les composantes RVB décorréliées entre les niveaux 0 et 255. Finalement, la transformation T est appliquée sur tous les pixels de l'image.

En illustration, nous présentons sur la figure 2.8 une image cytologique RVB (avec la répartition des pixels dans l'espace RVB initial) et le résultat de l'application de la méthode decorrelation-stretch [Gillespie et al., 1986]. On peut remarquer une nette différence d'intensité entre les régions d'intérêt, à savoir : les globules rouges et les globules blancs. Ainsi, la répartition des pixels décorréliés qui remplissent l'espace colorimétrique.

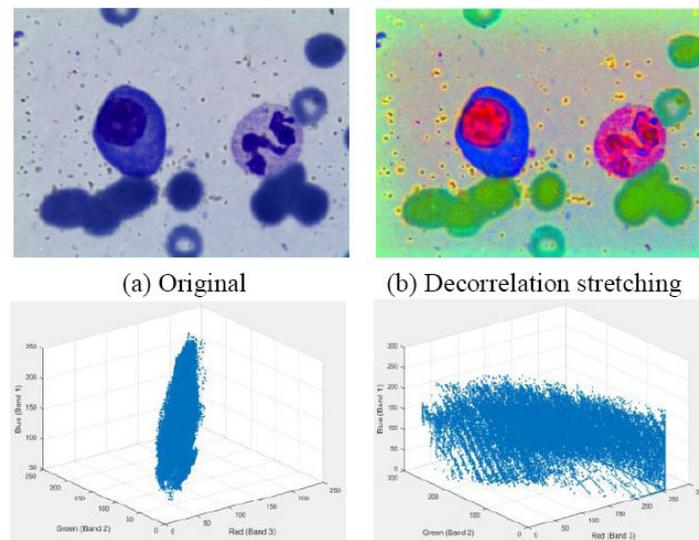


FIGURE 2.8 – Exemple d'une image cytologique RVB : a) image sans traitement, b) image après décorrélation et normalisation

2.4 La Texture

Au même niveau que la couleur, la texture est un facteur principal dans la perception et la reconnaissance des objets. Dans la littérature, différentes définitions sont proposées [Sklansky, 1978, Tamura et al., 1978, Haralick, 1979]. Une définition littéraire donnée à la texture : "la répétition spatiale d'un même motif dans différentes directions de l'espace" est considérée comme insuffisante et indépendante du comportement de l'observateur humain.

A titre d'exemple, la figure 2.9 présente différents type de textures issues de la base d'image de référence VisTex^b. Il est clair que ces textures possèdent plusieurs aspects et informations visuelles à savoir l'aspect granuleux, grossier, fin, régulier ou irrégulier. Ainsi, il est plus simple de donner une description visuelle de la texture, bien qu'il est difficile d'en donner une définition précise et générique de la notion de texture. Dans la littérature, il existe deux principales familles qui regroupent les différentes approches de description de texture [Cocquerez and Philipp-Foliguet, 1995] :

Description Macroscopique : basée sur la notion de primitive ou motif élémentaire (une primitive est un ensemble connexe de pixels ayant des propriétés similaires). Ainsi, une texture est considérée comme un agencement spatial répétitif ou périodique de ces éléments de base dans un contexte macroscopique, c'est le cas de la figure 2.9 (d) où le motif élémentaire (primitive) correspond à une brique. Il convient donc de définir la texture selon une approche déterministe (ou structurelle) dès lors que les motifs élémentaires se regroupent de façon régulière et suivent des règles de direction et de déplacement précises dans l'image [Tamura et al., 1978, Haralick, 1979].

Description Microscopique : dans cette catégories d'approches l'observation et l'étude de la texture doit se faire à un niveau microscopique (figure 2.9 (a)). Ces approches considèrent la primitive de texture au niveau d'un voisinage de chaque pixel afin de discerner localement des règles de distribution et de répétition dominantes sans qu'il y ait vraiment de répartition régulière

b. Vision Texture Database : une collection de 168 images de texture couleur extraites de scènes naturelles. Cette base de référence est répartie en 19 catégories de textures couleur (Massachusetts Institute of Technology 1995).

ou complètement aléatoire comme dans le cas du sable ou gravier. De ce fait, une approche probabiliste est essentielle pour caractériser la texture [Sklansky, 1978].

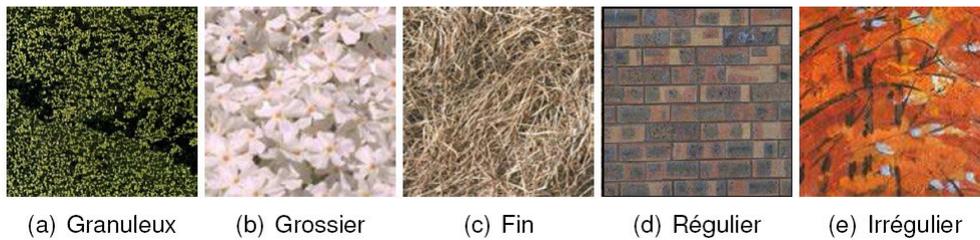


FIGURE 2.9 – Exemples de textures extraites de la base VisTex

Afin d'extraire les différentes textures d'une image, des attributs de texture sont calculés en utilisant des outils mathématiques. Ces attributs sont regroupés en quatre grandes catégories [Porebski, 2009, Attia, 2013] :

- les attributs géométriques,
- les attributs basés sur la modélisation spatiale des textures,
- les attributs spatio-fréquentiels,
- les attributs statistiques.

Notons que cette répartition n'est pas stricte et qu'un attribut peut appartenir à plusieurs catégories. Ainsi, le choix des attributs à employer est lié au type de texture à traiter et leur invariance aux transformations (rotation, translation, ...). Nous présentons dans la suite de cette section, les principaux attributs de chaque catégorie.

2.4.1 Attributs Géométriques

Cette famille d'attributs est dédiée à une perception macroscopique de la texture en intégrant l'information structurelle et contextuelle de l'image avec une extraction explicite des motifs de base et leurs règles de placement. L'inconvénient majeur de ces attributs est la sensibilité à la régularité de la texture étudiée et ne prennent pas en compte les irrégularités dans les images naturelles. Ainsi, cette famille d'attributs est très peu utilisée dans la littérature.

2.4.2 Attributs basés sur la modélisation spatiale

Basés sur la modélisation de la répartition spatiale des couleurs dans l'image. Parmi les modèles les plus utilisés, nous citons les trois modèles suivants [Porebski, 2009] : Les modèles auto-régressifs multispectraux, les modèles de Markov et les motifs locaux binaires (LBP) que nous allons voir plus en détail.

Les motifs locaux binaires

Local Binary Pattern (LBP) en Anglais, ont été présentés par OJALA [Ojala et al., 1996] pour la description de la texture dans des images en niveaux de gris, par la suite une extension à la couleur a été plusieurs fois utilisée dans la littérature [Porebski, 2009, Attia, 2013]. L'idée principale des LBP consiste à caractériser le motif local autour de chaque pixel P d'une image I en comparant les niveaux des composantes colorimétriques du pixel central aux niveaux de ces voisins. Par la suite, cette comparaison est codée sous forme d'un masque de poids.

L'attribut LBP en un pixel P qui représente l'interaction spatiales avec ses voisins en considérant la valeur de la composante couleur C_k pour le pixel central et la composante $C_{k'}$ pour les pixels voisins est noté : $LBP(P)^{C_k, C_{k'}}$. Pour le calcul de $LBP(P)^{C_k, C_{k'}}$ du pixel P un seuillage des valeur de la composante $C_{k'}$ des pixels voisins est effectué en utilisant l'équation suivante :

$$\forall t \in V_p \begin{cases} Si & C_{k'}(t) \leq C_k(p) & alors & LBP(p)^{C_k, C_{k'}} = 0 \\ Si & C_{k'}(t) \geq C_k(p) & alors & LBP(p)^{C_k, C_{k'}} = 1 \end{cases}$$

Avec : k et $k' \in \{1, 2, 3\}$ pour un espace couleur (C_1, C_2, C_3) . Par la suite, un masque de poids est appliqué aux résultats de seuillage afin de coder le voisinage de chaque pixel avec une pondération plus ou moins importante. Ce masque est constitué de valeurs entre 2^0 et $2^{(N-1)}$, N est le nombre de pixel voisin. Finalement, les valeurs résultantes sont additionnées pour avoir la valeur de $LBP(P)^{C_k, C_{k'}}$ du pixel analysé.

La figure 2.10 présente les étapes de calcul de LBP pour un pixel P d'une image codée dans l'espace couleur (C_1, C_2, C_3) avec $N = 8$ (voisinage 3×3).

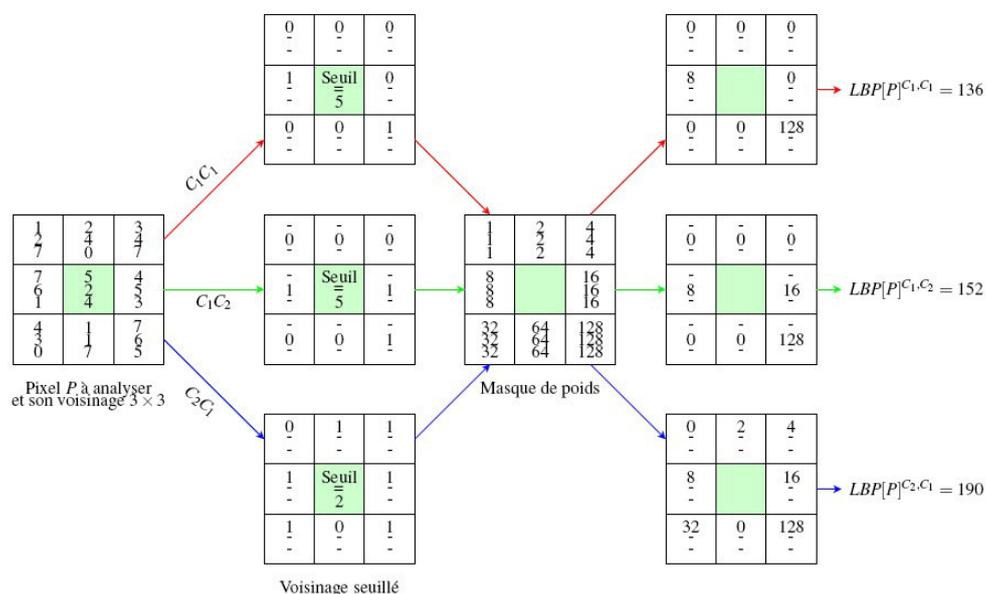


FIGURE 2.10 – Illustration du principe de calcul du LBP [Porebski, 2009]

Ainsi, pour caractériser la texture au niveau de chaque pixel P de l'image I , neuf (09) LBP sont nécessaires : 03 pour caractériser les relations intra-composantes ($LBP(P)^{C_1, C_1}$, $LBP(P)^{C_2, C_2}$, $LBP(P)^{C_3, C_3}$) et 06 pour caractériser les relations inter-composantes ($LBP(P)^{C_k, C_{k'}} \forall k \neq k' \in \{1, 2, 3\}$). Pour caractériser la texture de l'image I , les 09 histogrammes de LBP qui en résultent sont concaténés en un seul histogramme final de dimension $9 \times N$. Notons que les LBP peuvent être utilisés en considérant différentes distributions de voisinage comme illustré sur la Figure 2.11, où V est le nombre de voisins et R le rayon du cercle de ces voisins (distance).

2.4.3 Attributs spatio-fréquentiels

Ces attributs se divisent en trois catégories selon le domaine de calcul, à savoir :

- Domaine spatial : la texture est caractérisée par le nombre de transitions par unité de surface. En effet, une texture fine présente une forte densité de transitions contrairement à une texture grossière.
- Domaine fréquentiel : une transformation du domaine spatial vers le domaine fréquentiel est effectuée, la transformée de *Fourier* et la transformée

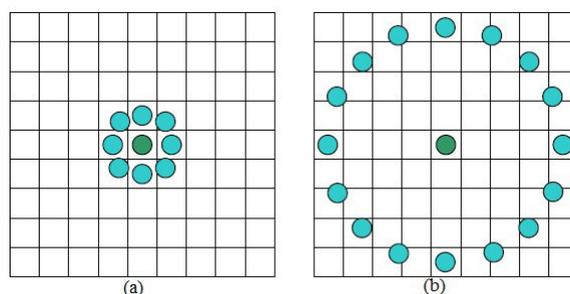


FIGURE 2.11 – Exemples de voisinages utilisés pour le calcul des LBP : (a) $V = 8, R = 1$ (b) $V = 16, R = 4$

en Cosinus sont les plus utilisées avec un ensemble de filtres sensibles chacun à une fréquence particulière. Le filtrage est appliqué sur chaque composante dans le cas d'une image couleur. Par conséquent, les attributs de texture sont calculés sur l'image filtrée en utilisant des techniques statistiques (énergie et variance par exemple). Notons que les deux transformées (Fourrier et cosinus) sont adaptées aux images avec texture grossière. En effet, la majorité de l'information est représentée par les basses fréquences contrairement aux hautes fréquences qui concernent les changements locaux.

- Domaine spatio-fréquentiel : il s'agit d'une association des deux domaines présentées ci-dessus. La transformation de Gabor et la transformation en Ondelettes sont les plus utilisés dans ce domaine.

2.4.4 Attributs statistiques

Cette catégorie d'attributs permet la caractérisation de tout type de textures en traduisant la relation entre chaque pixel et son voisinage en termes de variation de couleur, par conséquent même les textures fines et sans régularité apparente sont étudiées. L'ordre de ces attributs dépend principalement du type d'interaction spatiale entre les pixels considérés. Ainsi, ces attributs peuvent être divisés en trois ensembles selon leur ordre :

Attributs statistiques de premier ordre

S'intéressent essentiellement au pixel considéré en calculant les statistiques directement sur l'image couleur afin de caractériser la texture, On retrouve entre autre :

- La moyenne et la variance (écart type) des composantes couleurs afin d'estimer le degré de dispersion,
- La dissymétrie (skewness) qui mesure l'asymétrie des composantes en fonction de la moyenne,
- L'aplatissement (kurtosis) afin d'estimer la convexité ou la concavité des composantes au regard de la moyenne.

Notons que ces statistiques du premier ordre sont basées sur l'information couleur seulement et n'exploitent pas l'interaction spatiale entre les pixels.

Un deuxième ensemble d'attributs de premier ordre décrivant la distribution des composantes couleurs de l'image sont les histogrammes (mono dimensionnel et tridimensionnel). Dans la première forme monodimensionnelle le calcul est effectué pour chaque composante couleur indépendamment (1D). Par contre, l'histogramme (3D) tridimensionnel est sous forme de cellules contenant chacune d'elles le nombre de pixels de l'image caractérisés ayant la même couleur.

Généralement des attributs sont calculés sur la base de ces histogrammes pour caractériser la texture à savoir le mode qui représente la maximum d'un histogramme, la médiane qui divise l'histogramme en deux parties et l'intervalle interquartile qui correspond à la dispersion des valeurs autour de la médiane. Il est à noter que ces attributs sont faciles à calculés et à utiliser, mais leur point faible réside dans l'absence de l'information relations spatiales entre les pixels de l'image.

Attributs statistiques du second ordre

Parmi ces attributs on trouve les matrices de cooccurrences proposées par *Haralick* en 1973 [Haralick et al., 1973] et qui sont les plus utilisés dans la littérature [Porebski, 2009, Attia, 2013]. Les matrices de cooccurrences (Gray Level Cooccurrence Matrix GLCM) est un outil statistique performant pour caractériser la distribution du niveau de gris ou de la couleur dans une image tout en prenant en considération les interactions spatiales entre les pixels. il est à noter que les

matrices de cooccurrences chromatiques ont prouvé leur performance et efficacité notamment pour la segmentation d'image, en comparaison avec les matrices de cooccurrences en niveaux de gris proposées initialement dans les travaux de *Haralick* [Haralick et al., 1973]. La matrice GLCM d'une image I avec n niveaux de gris est une matrice carrée de dimension $(n \times n)$.

Dans la pratique, les images sont codées sur 256 niveaux de gris ($n=256$) par conséquent la taille de la matrice GLCM est considérable ainsi que le temps de traitement est important notamment dans le cas d'image couleur. Pour pallier à cet inconvénient, une quantification des niveaux de gris est appliquée sur l'image initiale (16, 32 ou 64 niveaux de gris).

La matrice GLCM est basée sur la calcul de la probabilité $P(i, j, \delta, \theta)$ qui reflète le nombre d'apparition des paires de valeurs de pixels (i, j) situés à une distance δ et selon une orientation donnée θ qui prend généralement ses valeurs dans l'ensemble $\{0^\circ, 45^\circ, 90^\circ, 135^\circ\}$, tout comme pour la distance δ qui n'excède pas quelques pixels afin de considérer qu'une information locale au voisinage du pixel. La figure 2.12 illustre ce principe.

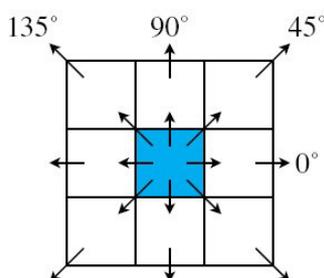


FIGURE 2.12 – Les 4 orientations θ

Pour les matrices de cooccurrences d'image couleur dans un espace (C_1, C_2, C_3) , le principe est le même sauf que le calcul des probabilités se fait entre les couple $C_k, C_{k'} \in (C_1, C_2, C_3)$ ainsi : $M^{C_k, C_{k'}}[I](\delta, \theta)$ la matrice de cooccurrences chromatique mesurant l'interaction spatiale entre deux composantes C_k et $C_{k'}$ des pixels de l'image I à une distance δ et orientation θ .

Dans la littérature, les matrices de cooccurrences ne sont pas utilisées directement pour caractériser les textures d'images en niveaux de gris ou bien couleur, car elles contiennent beaucoup d'informations et consomment énormément d'es-

pace mémoire. Par conséquent, des attributs sont calculés à partir de ces matrices dans le but de réduire la masse d'informations à traiter en conservant la pertinence de ces caractéristiques.

Pour cette raison nous avons fait le choix d'utiliser les indices d'*Haralick* calculés à partir des matrices de cooccurrences GLCM pour extraire l'information de texture dans notre stratégie de classification et identification des cellules segmentées. Nous détaillons dans la suite quelques indices d'*HARALICK* [Haralick et al., 1973] issus des matrices de cooccurrences qui nous ont tout particulièrement intéressés, à savoir :

– **Énergie :**

$$f1 = \sum_i \sum_j (P_{ij}(\delta, \theta)^2)$$

Ce paramètre mesure l'homogénéité globale de l'image, lorsque la distribution des niveaux de gris est constante ou de forme périodique l'énergie est importante.

– **Contraste :**

$$f2 = \sum_i \sum_j ((i - j)^2 P_{ij}(\delta, \theta))$$

Le contraste mesure les variations locales, si ces variations sont importantes, alors le contraste sera élevé.

– **Corrélation :**

$$f3 = \left(\sum_i \sum_j (ij) P_{ij}(\delta, \theta) - \mu_x \mu_y \right) / \sigma_x \sigma_y$$

Où, μ_x, μ_y et σ_x, σ_y sont les moyennes et écarts type respectivement. Ce paramètre permet de mesurer les dépendances linéaires entre les niveaux des composantes couleurs dans l'image, plus les valeurs sont uniformément distribuées dans la matrice de cooccurrences et plus la corrélation est importante.

– **Homogénéité :**

$$f5 = \sum_i^{N_g} \sum_j^{N_g} P_{ij}(\delta, \theta) / 1 + (i - j)^2$$

Représente l'homogénéité locale au sein de la texture, plus elle possède des régions homogènes et plus cet attribut est élevé.

– **Entropie :**

$$f9 = - \sum_i^{N_g} \sum_j^{N_g} P_{ij}(\delta, \theta) \log(P_{ij}(\delta, \theta))$$

C'est un indicateur de désordre de texture. il permet de caractériser le degré de granulation de l'image, plus la valeur élevée et plus la granulation est grossière.

Ces attributs calculés à partir matrices de cooccurrences dépendent des paramètres δ et θ qui représentent le voisinage considéré lors de la préparation de ces matrices. Afin de rendre la caractérisation invariante à la direction de la texture, *Haralick* propose d'utiliser la moyenne et la variance des attributs selon les directions $\theta = 0^\circ, 45^\circ, 90^\circ, 135^\circ$.

Le lecteur intéressé par tous les attributs de texture extraits des matrices de cooccurrences pourra se référer à [Porebski, 2009, Attia, 2013] pour plus de détails.

Attributs statistiques d'ordre supérieur

contrairement à la description de texture basée sur les matrices de cooccurrences qui étudient les niveaux des pixels pris deux à deux, la matrice de longueur de plages analyse l'image en calculant l'occurrence des niveaux de composante d'un segment de pixels dans une direction donnée. De ce fait, une longueur de plage est sous forme de suite de pixels adjacents, consécutifs avec la même valeur niveau de gris. Tout comme les matrices GLCM, l'exploitation des matrices de longueurs de plages n'est pas directe, en effet des paramètres sont calculés à partir de ces matrices pour caractériser la texture d'images [Porebski, 2009].

2.5 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons présenté les principaux espaces couleur et les différents types d'attributs de texture utilisés en traitement d'images. Cependant, il existe d'autres espaces couleur (CMYK, YUV, HSV,...) afin d'aborder de façon différente les problèmes rencontrés dans les applications [Lezoray, 2000]. Aussi, d'autres attributs moins courants permettent la caractérisation de la texture (les moments chromatiques, le modèle de covariance,...). En raison de cette multitude de systèmes, de nombreux auteurs se sont heurtés au problème de choix d'un système de représentation de la couleur et de caractérisation de la texture adapté à une problématique donnée. Ces notions fondamentales liées à la couleur et la texture que nous utiliserons tout au long de cette thèse.

Deuxième partie

Approche adoptée pour la reconnaissance des globules blancs

Chapitre 3

Segmentation d'images

3.1 Introduction

La segmentation consiste à partitionner une image en régions homogènes, cette étape est cruciale et complexe dans le processus de traitement et d'analyse d'images pour laquelle de très nombreuses méthodes existent, bien souvent ces techniques sont spécifiques à une unique application ou à une seule modalité d'imagerie. Ainsi, la connaissance à priori de l'image et du but recherché sont essentiels pour le choix de la méthode à utiliser (choix de l'espace couleur, présence ou non de texture, extraction de contour ou de région) [Meurie, 2005].

Dans la littérature on trouve plusieurs applications d'analyse d'images (la reconnaissance d'objets, la segmentation d'image, la compression, ... etc) qui utilisent la couleur et la texture comme sources d'information. En effet, l'utilisation de la couleur en segmentation permet d'obtenir des régions plus significatives vu que l'information couleur est liée directement aux régions [Lezoray, 2000]. On trouve plusieurs sortes d'algorithmes de segmentation d'images en niveaux de gris et qui peuvent être adaptés pour une application couleur, pour lesquelles les composantes colorimétriques des pixels sont utilisées.

Dans ce chapitre nous présentons d'abord les principales méthodes de segmentation dans la littérature et nous détaillons plus précisément la segmentation par la ligne de partage des eaux contrainte par marqueurs. par la suite nous nous intéressons à l'utilisation de la couleur et de la texture pour la segmentation d'image

couleur. Enfin nous proposons une approche pour la segmentation d'image cytologique en utilisant une nouvelle transformation couleur.

3.2 Les différentes approches de segmentation

La segmentation est un vaste sujet d'étude et fait partie des grands thèmes de l'imagerie numérique avec une grande variété de techniques existante dans la littérature. Certaines des approches les plus couramment utilisées sont ici présentées et regroupées en cinq familles. Nous nous basons sur les précédents travaux de [Lecoeur and Barillot, 2007, Lezoray, 2000, Meurie, 2005] pour résumer dans cette section les cinq approches retenues, mais nous verrons au travers d'exemples que ces catégories ne sont pas rigides et que certaines méthodes se situent à la frontière de ces cinq grands thèmes (contour, région, forme, structurelle, théorie des graphes) représentées sur la Figure 3.1.

3.2.1 Méthodes basées contour (frontière)

L'approche contour se distingue par la mesure des variations locales d'intensités afin d'extraire les lignes de contrastes qui séparent des régions de niveaux de gris, de couleur ou de texture différentes. Ces variations correspondent aux zones de transition et frontières entre les régions. On distingue notamment les modèles d'espace-échelle et les modèles dérivatifs.

– Espace-échelle (*scale-space*)

Le principe est de décrire la structure d'une image par une famille d'images simulant tout un ensemble de perceptions, allant de la perception des structures les plus fines (locales) aux plus grossières (globales). L'idée de l'approche est d'appliquer des filtres lissants passe-bas, tel que les filtres de faible rayon suppriment les détails les plus fins et les filtres de plus grand rayon conservent les grandes structures en éliminant les structures plus petites. L'analyse espace-échelle s'appuie de façon implicite sur un noyau constitué d'une fonction *Gaussienne* de paramètre σ qui sert de facteur d'échelle comme illustré sur la Figure 3.2. Cette fonction permet d'obtenir une description invariante de l'image et d'avoir un vecteur caractéris-

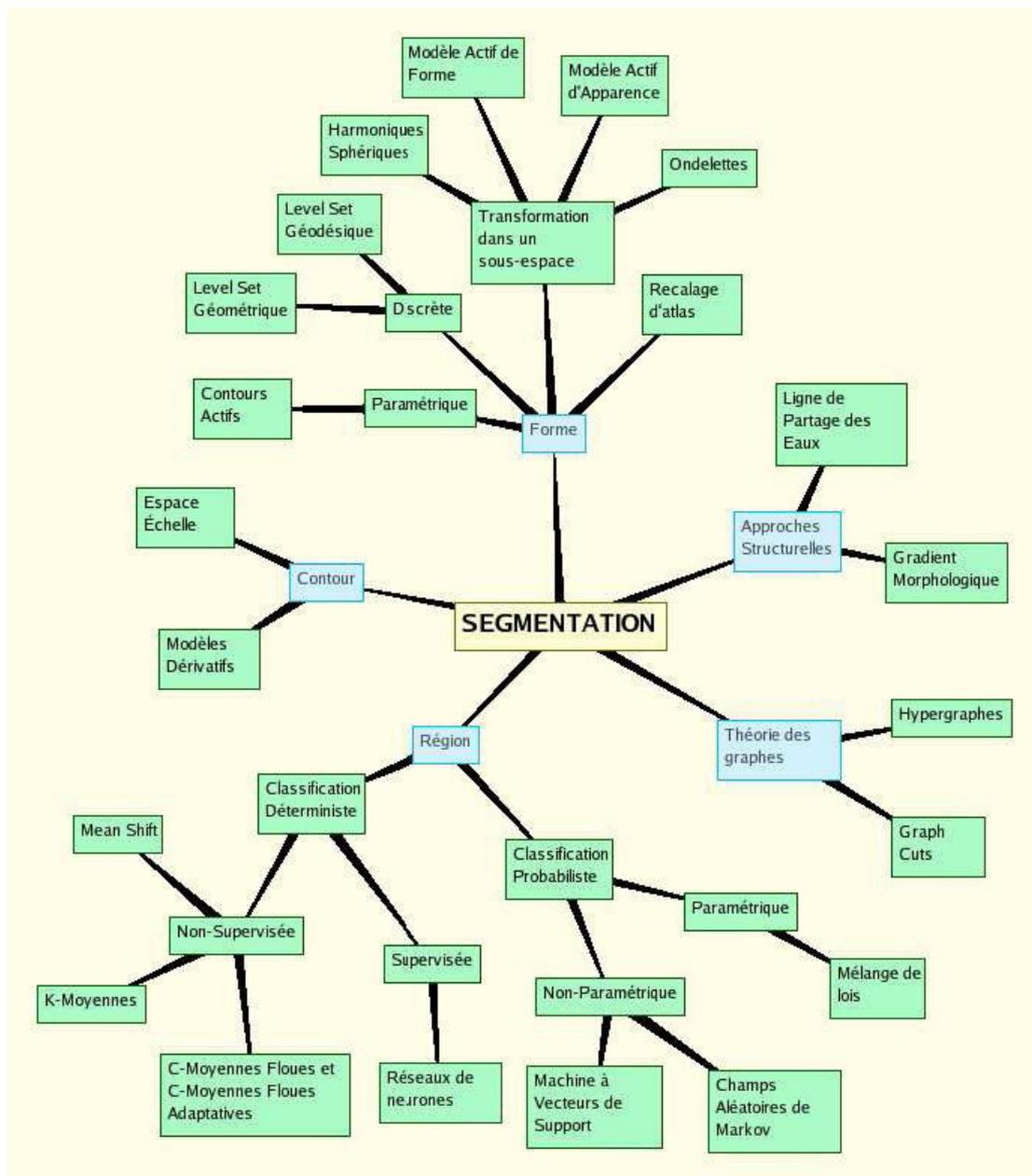


FIGURE 3.1 – Classification des différentes méthodes de segmentation [Lecoeur and Barillot, 2007]

tique d'un point donné de l'image moyennant uniquement des dérivations consécutives de la fonction.

Koenderink [Koenderink and van Doorn, 1987] définit un vecteur de composantes construites à partir d'un ensemble de dérivées Gaussiennes dans le but de trouver une caractérisation qui soit invariante à différentes transformations d'images (rotation d'image, changement de luminosité, modification d'échelle). Afin d'extraire des points d'intérêt stables et répétables en vue d'appariement ou d'indexation des images, les auteurs dans [Mikolajczyk and Schmid, 2001, Dufournaud et al., 2000] associent la performance de ce vecteur aux regroupements et aux combinaisons des différentes composantes du vecteur. Les dérivées Gaussiennes consécutives fournissent ainsi une base de décomposition pertinente qui pourra servir à définir une cartographie de caractéristiques locales de l'image.

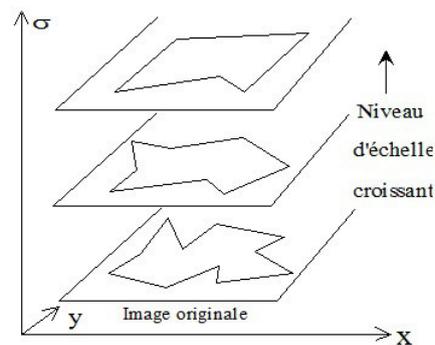


FIGURE 3.2 – Illustration de la représentation multi-échelles d'une image

– *Modèles dérivatifs*

Les modèles dérivatifs supposent que l'image numérique provient de l'échantillonnage d'une fonction scalaire à support borné et dérivable en tout point. Dans une image, les variations d'intensité sont liées à des variations d'illuminations (ombres), des changements de réflectance de surface, des changements d'orientation ou de distance à l'observateur, des variations d'absorption des rayons, etc. Cependant, en traitement d'image toutes ces grandeurs sont représentées par une seule variable à deux ou trois dimension (dans le cas monochrome, c'est l'intensité lumineuse). On distingue trois types de contours simples (voir Figure 3.3). Ces contours ont permis une approche de détection par les opérateurs Gradient et Laplacien, comme l'indique la

Figure 3.4 on peut trouver le point de contour par détermination du maximum de la norme du gradient ou bien en étudiant le passage par zéro du laplacien. Ainsi, les opérateurs de *Roberts*, *Prewitt* et *Sobel* donnent une estimation de la dérivée directionnelle de l'image par rapport à un axe. Ces opérateurs sont très sensibles aux bruits mais ils ont le mérite d'avoir posé les bases de la détection de contours [Lecoeur and Barillot, 2007].

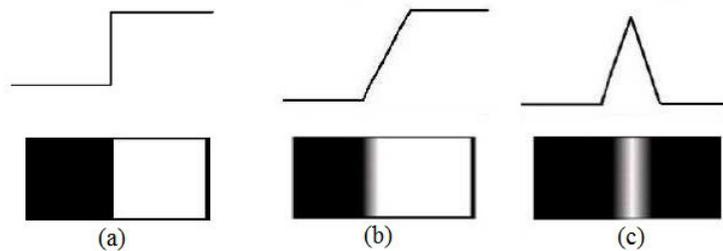


FIGURE 3.3 – Modèles de contours, (a) Marche d'escalier : le contour est net (contour idéal), (b) Rampe : le contour est plus flou, (c) Toit : il s'agit d'une ligne sur un fond uniforme

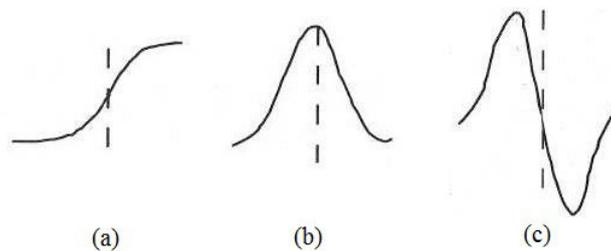


FIGURE 3.4 – Opérateurs dérivatifs, (a) profil du Contour, (b) norme du Gradient, (c) Laplacien

3.2.2 Méthodes basées région

La notion de région est associée à des regroupements ou ensemble de pixels connexes ayant des attributs communs (couleur, texture, etc). L'approche segmentation par région utilise des techniques d'identification et de localisation de ces ensembles de pixels pour aboutir à une partition de l'image où chaque pixel est affecté à une région unique. L'utilisation des méthodes par classification dans la

segmentation est très répandue, ils ont pour but de partitionner les images en plusieurs classes et constituent une étape dans la segmentation d'objet. Ces différentes classifications peuvent être séparées selon plusieurs critères : probabilistes ou déterministes, paramétriques ou non, supervisées ou non.

– *Classification Déterministe Supervisée*

Réseaux de Neurones : sont des modèles théoriques de traitement de l'information inspirés des observations relatives au fonctionnement des neurones biologiques et du cortex cérébral. Un réseau de neurones artificiels est composé d'une succession de couches dont chacune prend ses entrées sur les sorties de la précédente (voir Figure 3.5). Le neurone calcule la somme de ses entrées puis cette valeur passe à travers la fonction d'activation pour produire sa sortie, les liaisons entre les neurones sont assurées par des synapses et à chaque synapse est associé à un poids synaptique. Généralement, en segmentation d'images les réseaux de neurones sont utilisés comme classifieurs et les poids synaptiques sont déterminés par apprentissage sur une base d'image (vérité terrain), on parle alors de réseau de neurones supervisé. Mais l'inconvénient majeur de cette méthode par réseaux de neurones est l'étape d'apprentissage qui demande une intervention manuelle pour donner cette vérité terrain dont le réseau a besoin pour calculer les poids synaptiques.

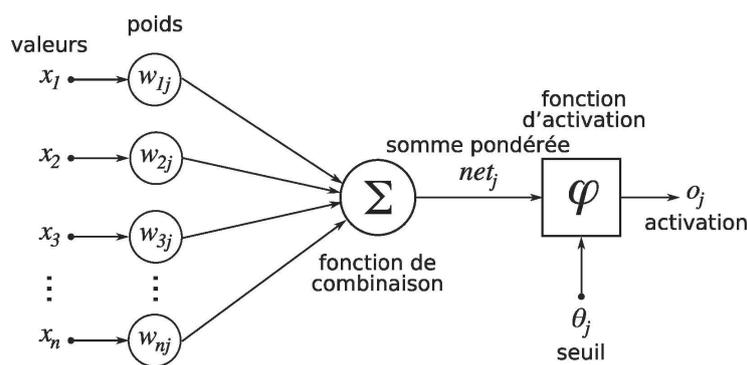


FIGURE 3.5 – Structure d'un neurone artificiel

– *Classification Déterministe Non Supervisée*

C-Moyennes Floues : L'algorithme des c-moyennes floues (fuzzy c-means

FCM) est une extension directe de l'algorithme classique des K-moyennes (k-means), où l'on a introduit la notion d'ensemble flou dans la définition des classes. Cet algorithme a été développé essentiellement par *Bezdek* [Bezdek, 1981], à partir des idées originales de *Ruspini* (clustering flou) [Ruspini, 1969] et de *Dunn* (ISODATA flou) [Dunn, 1973]. Les c-moyennes floues sont un cas particulier d'algorithmes basés sur la minimisation d'une fonction objectif. C'est aussi une méthode métrique, c'est à dire le critère à minimisé fait intervenir des distances séparant les points du nuage des prototypes aux centres des différents groupes. Le principe de base est de former à partir des individus non étiquetés C groupes qui soient les plus homogènes et naturels possible. Homogène et naturel signifient que les groupes obtenus doivent contenir des individus les plus semblables possible, tandis que des individus de groupes différents doivent être les plus dissemblables possibles.

D'autres variantes de ces algorithmes ont ensuite été mises au point afin d'en accroître les performances, ces versions améliorées sont souvent dédiées à une application particulière, les FCM restent généralement utiles dans un grand nombre de situations et spécialement dans la segmentation des images médicales. Dans nos précédents travaux [Benomar, 2012, Benomar et al., 2012] nous avons présentés deux versions de l'algorithme FCM en intégrant des contraintes spatiales.

Dans la première version, la moyenne des composantes colorimétriques des voisins directes de chaque pixel de l'image est intégrée dans le processus de classification. Dans la deuxième technique, l'information spatiale consiste en la somme des degrés d'appartenance des voisins directes du pixel considéré, l'algorithme FCM standard reste le même avec l'insertion d'une nouvelle formule de calcul du degré d'appartenance spatiale, dans ce cas chaque itération comprend deux passages successifs (two-pass process). La segmentation des cellules en utilisant les deux algorithmes flous a donnée des résultats intéressants pour les régions noyaux (voir Figure 3.6 et le tableau 3.1), par contre elle est plus au moins complexe et consomme beaucoup plus de temps de calcul par rapport à l'algorithme standard FCM.

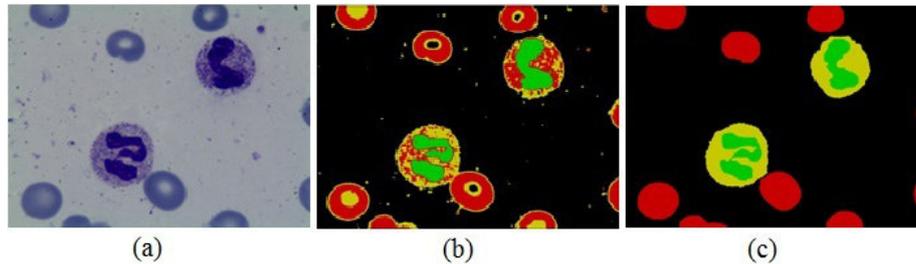


FIGURE 3.6 – Résultat visuel : (a) image originale, (b) segmentation floue FCM, (c) vérité terrain [Benomar, 2012]

	Rate(%)		Accuracy(%)	
	Noyau	Cytoplasme	Noyau	Cytoplasme
FCM Standard	96.49	55.40	50.70	29.69
FCM variante 1	96.60	55.61	50.72	29.96
FCM variante 2	96.25	57.83	54.32	30.49

TABLE 3.1 – Résultats de segmentation floue (Fuzzy C-means) [Benomar, 2012]

– *Classification Probabiliste Paramétrique*

Mélange de Lois : Il est nécessaire de disposer de méthodes s’adaptant à la diversité des données à analyser comme l’abondance, ou au contraire la rareté, des objets (individus) disponibles ainsi que le nombre et/ou le type de descripteurs (variables) pour chacun d’entre eux. Lorsqu’on part du postulat que ces groupes suivent une loi de probabilité (quelconque), alors on se place nécessairement dans le cadre des modèles de mélanges qui répondent à ces exigences et ils sont devenus aujourd’hui un outil populaire et utilisé avec succès dans un nombre croissant de disciplines comme la reconnaissance d’images, l’astronomie, la biologie, la génétique etc. Si on considère que les lois que suivent les individus sont normales, on parle alors de *mélange Gaussien (GMM pour Gaussian Mixture Model)*. Formellement, le paramètre global du mélange est défini par : $\phi = (\pi_1, \dots, \pi_g, \theta_1, \dots, \theta_g)$ où les π_i sont les proportions des différents groupes et $\theta_i = (\mu_i, \Sigma_i)$ sont les paramètres de chaque loi normale et le nombre de groupes g étant fixé a priori [Lecoeur and Barillot, 2007].

La principale difficulté de cette approche consiste à déterminer le meilleur paramètre ϕ . Pour cela, on cherche habituellement le paramètre qui maxi-

mise la vraisemblance. L'estimation des paramètres peut être effectuée au moyen de l'algorithme *EM* (*Expectation-maximisation*). C'est un algorithme itératif permettant de dégager l'obstacle de la détermination de ϕ , l'algorithme alterne des étapes d'évaluation de l'espérance (*E*), où l'on calcule l'espérance de la vraisemblance en tenant compte des dernières variables observées, et une étape de maximisation (*M*), où l'on estime le maximum de vraisemblance des paramètres en maximisant la vraisemblance trouvée à l'étape *E*. Une fois l'estimation effectuée, la classification passe par l'attribution de chaque individu à la classe à laquelle il appartient le plus probablement via la règle d'inversion de *Bayes* [Lecoeur and Barillot, 2007].

– *Classification Probabiliste Non-Paramétrique*

Machine à Vecteurs de Support (SVM) : La théorie de l'apprentissage statistique de *Vapnik* et de *Chervonenkis* [Vapnik and Vapnik, 1998] a conduit au développement d'une classe d'algorithme connu sous le nom de *SVM*. Ils permettent de réaliser des estimations en classification, faisant l'hypothèse que les éléments sont linéairement séparables s'ils sont préalablement projetés dans un espace à grande dimension adéquat et calculer un séparateur dans cet espace appelé hyperplan (voir Figure 3.7). La projection est réalisée par l'utilisation de fonctions *Kernel*.

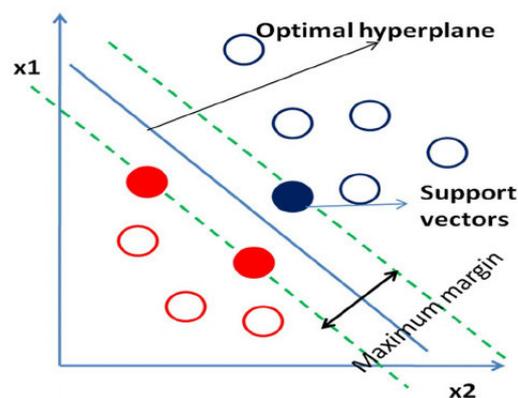


FIGURE 3.7 – SVM : hyperplan optimal (en bleu) avec la marge maximale, les échantillons colorés sont des vecteurs supports

Une des originalités de la méthode est de produire une fonction de

	Rate(%)		Accuracy(%)	
	Noyau	Cytoplasme	Noyau	Cytoplasme
LDA	90.70	90.64	94.19	79.43
ReliefF	95.02	90.25	95.02	84.53

TABLE 3.2 – Résultats de segmentation (classification pixellaire SVM)[Benazzouz et al., 2013]

décision qui n'utilise qu'un sous-ensemble de la base d'apprentissage, les éléments de ce sous-ensemble sont nommés Vecteurs de Support (VS). L'objectif des SVM est de maximiser la marge de séparation entre les classes, ce principe s'applique très bien à la segmentation d'image. Les SVM sont utilisées dans de nombreux travaux d'analyse d'images médicales : lésion de la matière blanche, tumeurs cérébrales, classification des cellules [Benazzouz et al., 2013, Benazzouz et al., 2016, Putzu and Di Ruberto, 2013, Rezatofighi and Soltanian-Zadeh, 2011], la Figure 3.8 et le tableau 3.2 présentent quelques résultats de segmentation [Benazzouz et al., 2013].

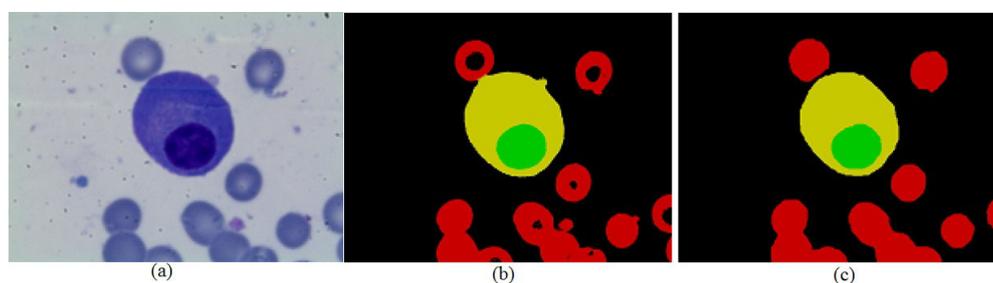


FIGURE 3.8 – Résultat de segmentation (classification SVM) [Benazzouz et al., 2013] : (a) image originale, (b) image segmentée, (c) vérité terrain

Croissance de régions (region-growing) : il s'agit d'un procédé itératif, cette technique fait grossir progressivement les régions autour d'un point initial. L'algorithme commence par trouver les points de départ (seeds) des régions ensuite les accroître par agglomérations des pixels voisins. Le choix des points de départ est l'étape critique de l'algorithme, il convient de les choisir dans des zones les plus homogènes possibles, autrement la mesure de similarité va produire de fortes variations et la croissance va s'arrêter

très tôt. On peut utiliser le principe de décomposition utilisé dans l'algorithme split/merge, la décomposition finale produit une liste de blocs homogènes et le centre des plus gros blocs constituera de bons points de départ. L'étape de croissance définit un indicateur d'homogénéité qui contrôlera l'union avec les pixels voisins [Benazzouz, 2014]. Dans nos récents travaux [Benazzouz et al., 2017] nous avons utilisés cette technique pour segmenter les cellules globules blancs dans des images médullaires (voir section 1.5), la Figure 3.9 présente quelques résultats de segmentation.

3.2.3 Approches Structurelles

Ligne de Partage des Eaux (Watershed) : Au regard des méthodes utilisées en traitement d'image, nous nous sommes intéressés aux méthodes de morphologie mathématique qui sont très adaptés pour segmenter des images couleur avec un certain degrés de complexité. Dans le cadre des méthodes de morphologie mathématiques, l'algorithme de la ligne de partage des eaux (LPE, Watershed en Anglais) introduit par *Digabel et Lantuéjoul* [Digabel and Lantuéjoul, 1978] est maintenant utilisé comme une étape fondamentale dans de nombreux travaux de segmentation d'image, on retrouve entre autre : *Arslan et al.* [Arslan et al., 2014] et *Putzu and Di Ruberto* [Putzu and Di Ruberto, 2013] qui ont mis en place des méthodes de segmentation des globules blancs dans des images cytologiques, la Figure 3.10 et la Figure 3.11 présentent quelques résultats de segmentation. La LPE utilise une description topographique des images et fournit des régions bornées par des contours fermés. L'idée de base est de considérer l'image comme un relief, où le niveau de gris (couleur, texture) de chaque pixel est associé à une altitude, la Figure 3.12 montre une image de cytologie et l'image d'altitude correspondante, un point est d'autant plus élevé dans le relief qu'il est clair dans l'image. Les pixels sombres correspondent donc aux vallées et bassins du relief alors que les pixels clairs correspondent aux collines et lignes de crêtes. La ligne de partage des eaux est donc définie par la crête qui forme la limite entre deux bassins versants et pour l'obtenir, il faut imaginer l'immersion d'un relief dans de l'eau, en précisant que l'eau ne peut pénétrer dans les vallées que par ses minima (voir Figure 3.13).

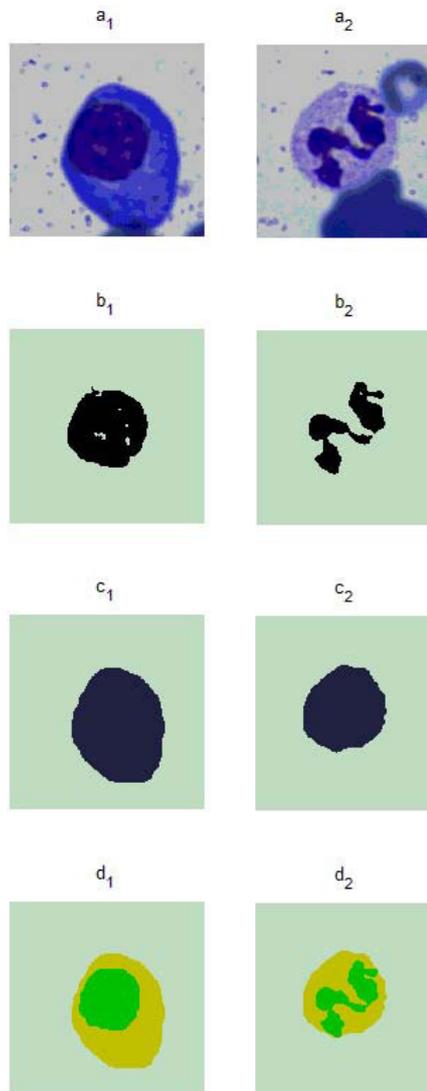


FIGURE 3.9 – résultat de segmentation [Benazzouz et al., 2017] : (a_1, a_2) : image originale, (b_1, b_2) : résultat noyau, (c_1, c_2) : region growing, (d_1, d_2) : résultat cytoplasme en jaune après soustraction ($c - b$)

Il existe différents algorithmes pour le calcul de la LPE dont deux classes principales d'implémentation, la première est basée sur le principe d'immersion proposé par [Vincent and Soille, 1991] et une autre basée sur une fonction de distance géodésique [Meyer, 1994]. Une étude plus détaillée sur les algorithmes de la ligne de partages des eaux existants peut être trouvée dans [Roerdink and Meijster, 2000].

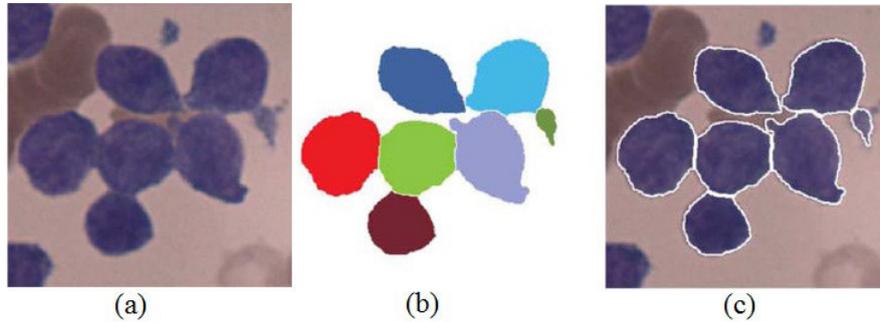


FIGURE 3.10 – Segmentation LPE : (a) Image originale, (b) : Watershed lines, (c) : résultat de segmentation [Arslan et al., 2014]

Dans cette section nous allons effectuer quelques rappels (définitions) de notions de morphologie mathématique et présenter l’algorithme de la ligne de partage des eaux proposé par [Vincent and Soille, 1991] que nous allons utiliser dans notre travail de thèse.

– *Définition de base :*

Considérons une image discrète I , D_I est son domaine :

$$I : D_I \subseteq \mathbb{Z}^2 \longrightarrow \{0, 1, \dots, N\}$$

$$P \longrightarrow I(p)$$

I est donc supposée ne prendre que des valeurs discrètes dans l’intervalle $[0, N]$, N étant un entier positif arbitraire. On note G la grille de voisinage des pixels (Grid). G peut correspondre à la 4 ou à la 8 connectivité si la trame est carrée ou à la 6 connectivité si la trame est hexagonale. L’ensemble des voisins d’un pixel p est noté $N_G(p)$:

$$N_G(p) = \{p' \in \mathbb{Z}^2 \mid (p, p') \in G\}$$

– *Définition 1 :* Un chemin P de longueur l entre deux pixels p et q dans l’image I est un ensemble de $(l + 1)$ pixels $(p_0, p_1, \dots, p_{l-1}, p_l)$ tel que $p_0 = p$, $p_l = q$ et $\forall i \in [1, l] \quad (p_{i-1}, p_i) \in G$. Par la suite on notera $l(P)$ la longueur d’un chemin donné P .

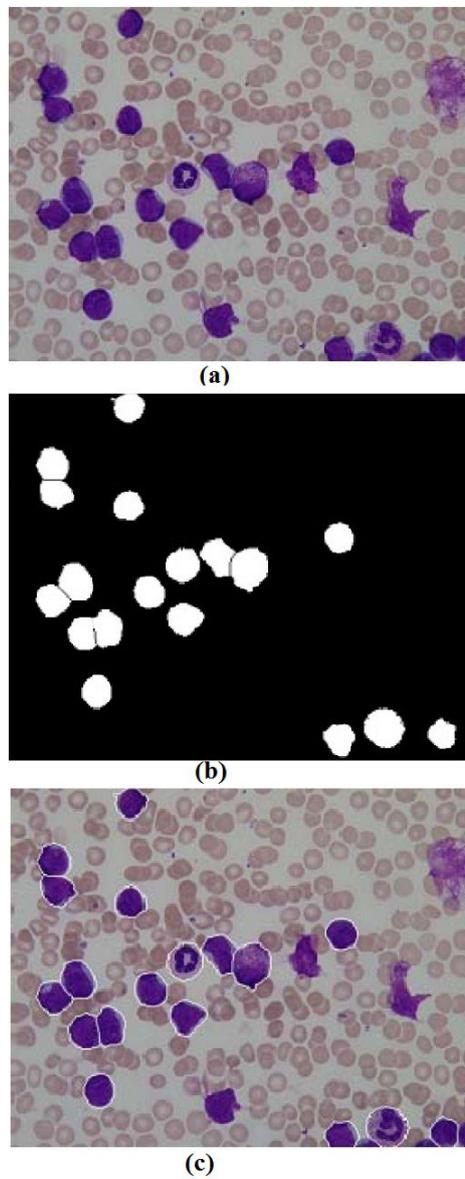


FIGURE 3.11 – Segmentation LPE : (a) Image originale, (b) Image binaire du résultat Watershed, (c) Image originale et les frontières cellulaires superposées [Putzu and Di Ruberto, 2013]

- *Définition 2* : Un minimum M de l'image I et d'altitude h est un plateau de pixels connectés dont la valeur vaut h tel qu'il soit impossible d'atteindre un point d'altitude inférieure sans devoir grimper.

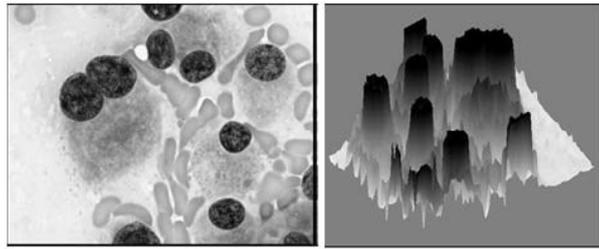


FIGURE 3.12 – Image microscopique et l’image d’altitude associée

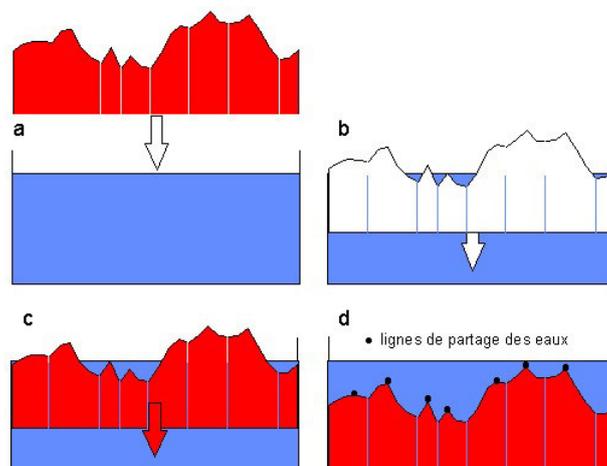


FIGURE 3.13 – Principe de la Ligne de Partage des Eaux

$$\begin{aligned} &\forall p \in M, \quad \forall q \notin M, \quad \text{telque} \quad I(q) \leq I(p) \\ &\forall P = (p_0, p_1, \dots, p_l) \quad \text{telque} \quad p_0 = p \quad \text{et} \quad p_l = q \\ &\exists i \in [1, l] \quad \text{telque} \quad I(p_i) > I(p_0). \end{aligned}$$

Un minimum est donc un ensemble de pixels de même altitude, où le niveau de gris est strictement plus foncé que dans les pixels voisins. On appelle ces extrema des *minima régionaux*, ceci définit les bassins versants qui sont les zones géographiques où une goutte d’eau, suivant la ligne de plus grande pente, arrivera dans ce minimum (voir Figure 3.14), Les lignes séparant différents bassins versants forment ce que l’on appelle les lignes de partage des eaux (Watersheds).

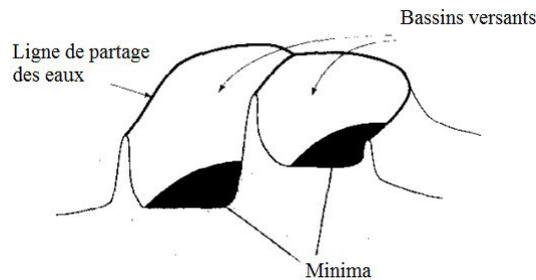


FIGURE 3.14 – Minima, bassins versants et ligne de partage des eaux [Vincent and Soille, 1991]

La LPE par immersion : l’algorithme de *Vincent-Soille* [Vincent and Soille, 1991] peut être décrit par le processus suivant :

1. placer une source d’eau dans chaque minimum régional de la surface topographique ;
2. inonder la surface topographique à partir des sources placées dans les minima, afin que l’eau monte à vitesse constante et soit uniforme dans tous les bassins versants ;
3. construire un barrage aux points où les eaux issues de deux minima différents se rencontrent de façon à ce que les eaux issues de deux bassins versants différents ne se mélangent pas (voir Figure 3.15). A la fin du processus d’immersion, l’ensemble des barrages constitue la ligne de partage des eaux.

Exprimons à présent ce processus de façon plus formelle :

On note h_{min} la plus petite valeur de l’image, h_{max} la plus grande valeur et $T_h(I)$ l’ensemble des pixels dont l’altitude est plus basse que h :

$$T_h(I) = \{p \in D_I, I(p) \leq h\}$$

On note $C(M)$ le bassin d’attraction associé à un minimum M et $C_h(M)$ le sous ensemble de ce bassin dont les points ont une altitude plus petite ou égale à h :

$$C_h(M) = \{p \in C(M), I(p) \leq h\} = C(M) \cap T_h(I)$$

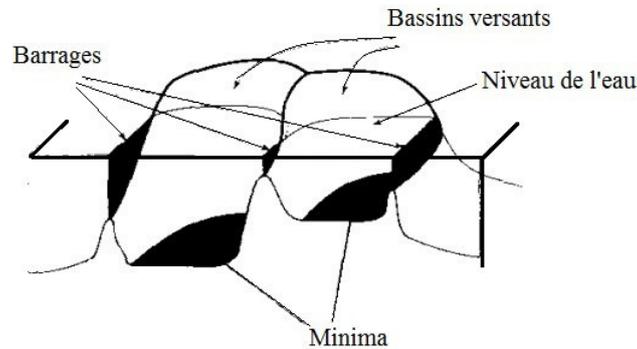


FIGURE 3.15 – Barrages aux endroits où l’eau provenant de deux minima se mélangeraient [Vincent and Soille, 1991]

On notera $min_h(I)$ l’ensemble des points étant des minima d’altitude h . Avant de définir la ligne de partage des eaux, nous devons rappeler les définitions de la distance géodésique et de la zone d’influence géodésique.

- La distance géodésique : $d_A(x, y)$ entre deux pixels x et y appartenant à un objet A , est la longueur du plus petit chemin reliant x et y dans A (voir Figure 3.16).

$$d_A(x, y) = \inf \{ l(P) = (p_0, \dots, p_l) / p_0 = x \text{ et } p_l = y, \forall p_i \in P \text{ avec } i \in [1, l - 1], p_i \in A \}$$

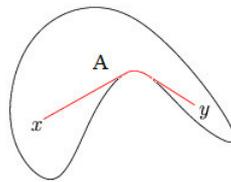


FIGURE 3.16 – La distance géodésique entre deux point à l’intérieur d’un ensemble [Vincent and Soille, 1991]

- Zone d’influence : soit A un ensemble connexe, B un autre ensemble $B \subseteq A$ et soient B_1, \dots, B_k les composantes connexes de B . La zone d’influence géodésique $iz_A(B_i)$ d’une composante de B est l’ensemble des points tels

que leur distance géodésique à B_i soit strictement plus petite que leur distance géodésique aux autres composantes de B (voir Figure 3.17).

$$iz_A(B) = \{p \in A, \forall j \in [1, k] / \{i\}, d_A(p, B_i) < d_A(p, B_j)\}$$

$$IZ_A(B) = \bigcup_{i \in [1, k]} iz_A(B_i)$$

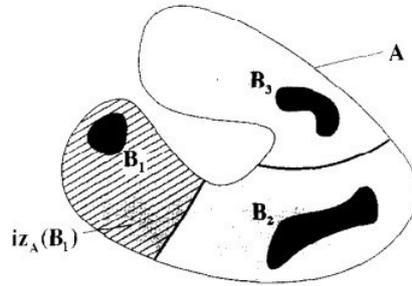


FIGURE 3.17 – Un ensemble de composantes connectées B_i et les 3 zones d'influence géodésique [Vincent and Soille, 1991]

- Ligne de partage des eaux : L'ensemble des bassins versants de l'image I est donné par l'ensemble $X_{h_{max}}$ obtenu après l'itération suivante (voir Figure 3.18).

$$1) X_{h_{min}} = T_{h_{min}}(I)$$

$$2) \forall h \in [h_{min}, h_{max} - 1], X_{h+1} = \min_{h+1}(I) \cup IZ_{T_{h+1}(I)}(X_h)$$

Les lignes de partage des eaux sont le complémentaire de $X_{h_{max}}$ dans l'image, c'est à dire l'ensemble des points qui n'appartiennent à aucun bassin d'attraction.

La LPE contrainte par marqueurs : le problème majeur de la LPE, si elle est calculée directement sur une image réelle, est la sur-segmentation provoquée par le bruit qui crée autant de minima locaux parasites (voir figure 3.19). Pour palier

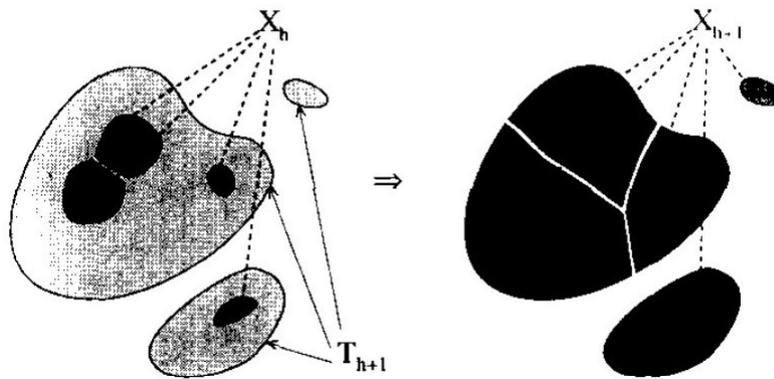


FIGURE 3.18 – Itération entre X_h et X_{h+1} [Vincent and Soille, 1991]

à ce problème, deux principales approches ont été proposées dans la littérature :

- *En pré-traitement* : réduire le nombre des minima afin d'éviter le calcul d'un grand nombre de régions.
- *En post-traitement* : procéder par des techniques de filtrages en fusionnant les régions selon des critères de similarité spectrale et spatiale.

Dans ce travail de thèse, on s'intéresse aux techniques permettant d'éliminer les *minima* parasites en pré-traitement. L'idée de la LPE contrainte par marqueurs consiste à pré-calculer les minima par objet qui seront utilisées comme marqueurs et qui ont pour rôle d'imposer la présence de certaines régions seulement, de manière à contraindre la topologie de la LPE pour que chaque bassin versant correspondant soit à un unique objet (foreground) soit au fond de l'image (background). La Figure 3.20 montre un exemple du procédé de segmentation de la LPE standard et la LPE avec des minima imposés. Ainsi, le nombre de régions obtenues correspond au nombre des marqueurs choisis. Pour récapituler, la LPE contrainte par marqueurs (*Marker-controlled Watershed*) fonctionne de la manière suivante [Lezoray, 2000] :

1. Trouver les marqueurs : une composante connexe par objet et une composante connexe pour le fond de l'image ;
2. Déterminer l'image sur laquelle on calcule la LPE ;
3. Imposer les minima ;
4. Calculer la LPE.

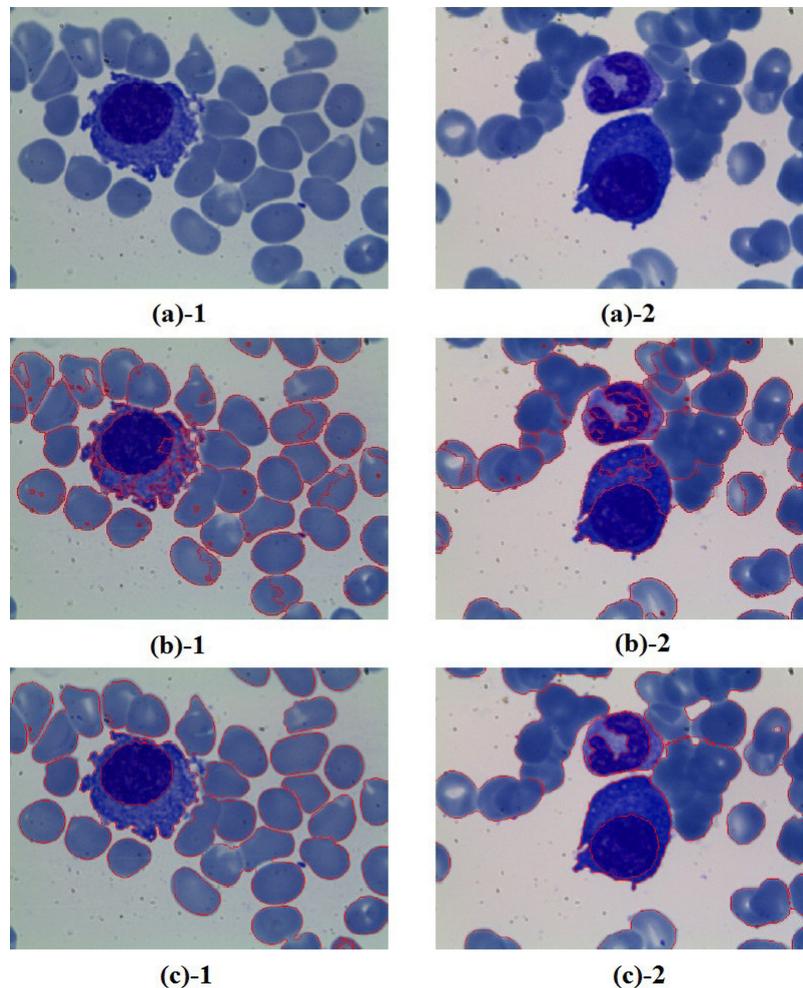


FIGURE 3.19 – Résultat de segmentation Watershed : (a)Image Originale, (b) Image segmentée, (c) Vérité terrain

L'étape clé de cette technique demeure dans la recherche des marqueurs. Nous citons quelques méthodes existantes dans la littérature :

- *Filtrage des minima* : le principe de cette technique réside dans la fusion des minima entre eux afin de réduire le nombre des régions final obtenu. L'extraction des minima significatifs est automatique, sans une véritable introduction de connaissance a priori sur les régions à segmenter, en utilisant des filtres morphologiques qui permettent de garder les minima les plus pertinents, en éliminant les détails inutiles de l'image (non-significatifs), et de

préserver les contours de l'image afin de distinguer les objets à segmenter [Serra, 1982].

- *Approche marqueurs (swamping)* : basée sur des connaissances a priori pour trouver des marqueurs faisant partie des objets à segmenter, en isolant ces objets du fond de l'image avec des marqueurs objets et un marqueur pour le fond de l'image. Plusieurs techniques existantes dans la littérature font appel à des méthodes statistiques, des méthodes de reconnaissances de forme et de caractérisation géométrique ou des méthodes manuelles.
- *Approche hiérarchique* : une première LPE est utilisée pour servir de marqueur pour une seconde, les zones délimitées donnent lieu à une image mosaïque qui n'est plus construite par pixels, mais comme graphe planaire. Cette image mosaïque est susceptible à son tour d'être à nouveau traitée par la même démarche (image mosaïque + LPE) afin d'avoir des niveaux de hiérarchie croissants avec moins de sur-segmentation, ce qui donne lieu à une segmentation hiérarchique [Beucher, 1990].

3.2.4 Approche basée Forme

Les approches basées sur la forme sont utilisées dans des situations pour lesquelles on a connaissance de la forme d'un objet comme "à priori" et une segmentation à base de modèle peut être appliquée.

Recalage d'atlas : un algorithme de mise en correspondance est utilisé afin d'apparier une image de référence (l'atlas) et l'image en entrée, en superposant les informations de l'image d'atlas et l'image à segmenter. La segmentation globale est obtenue en recalant simultanément les structures anatomiques qui constituent la matière grise [Collins and Evans, 1997]. Différentes techniques de recalage existent dans la littérature et qui sont classées selon quatre critères principaux (les attributs utilisés, le critère de similarité entre les images, le modèle de transformation, la stratégie d'optimisation). Plusieurs méthodes de segmentation dans le domaine de la neuro-imagerie utilisent l'atlas de référence *Talairach* [Talairach and Tournoux, 1988, Talairach and Szikla, 1967] qui est devenu un standard pour la normalisation et le recalage inter-sujet afin de replacer le cer-

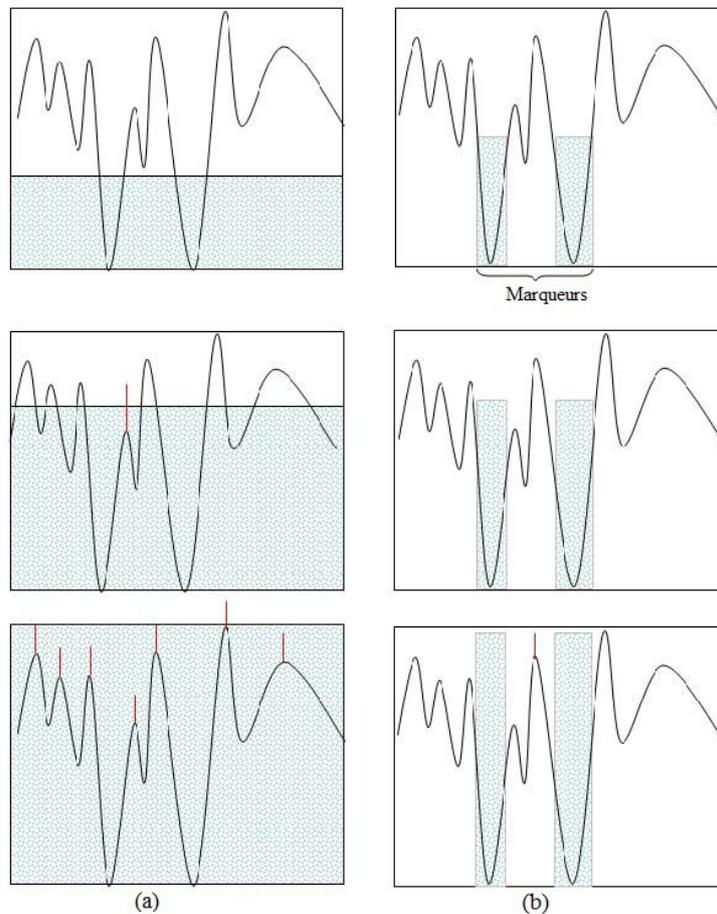


FIGURE 3.20 – (a) processus de la LPE standard, (b) LPE contrainte par marqueurs

veau dans un référentiel. D'autres approches utilisent le recalage d'atlas pour segmenter les images IRM du cerveau.

Transformation dans un sous-espace : le principe de cette approche est basée sur des transformations dans un sous-espace d'approximations possibles afin d'éliminer des détails pour se focaliser sur la forme à segmenter. Les techniques les plus représentatives de cette approche sont bien l'analyse par ondelettes et par harmoniques sphériques.

- *Ondelettes* : la théorie des ondelettes s'est développée dans les années 80, elle a eu un grand succès pour la compression (*JPEG2000*), le débruitage et

la segmentation d'image. Cette technique peut être considérée comme une alternative de la *Transformée de Fourier rapide (FFT)*. Ainsi, les ondelettes décomposent l'image en base orthogonale, tandis que la FFT la décompose en phase et en amplitude. L'analyse en ondelettes repose sur un principe de décomposition en sous-bandes et de transformation par projection sur des bases orthogonales similaire à une transformée de Fourier à court terme dans laquelle la fenêtre d'analyse est optimisée. La figure 3.21 présente un exemple de segmentation par ondelettes, la méthode permet d'extraire les régions de différentes formes et intensités (claires ou foncées).

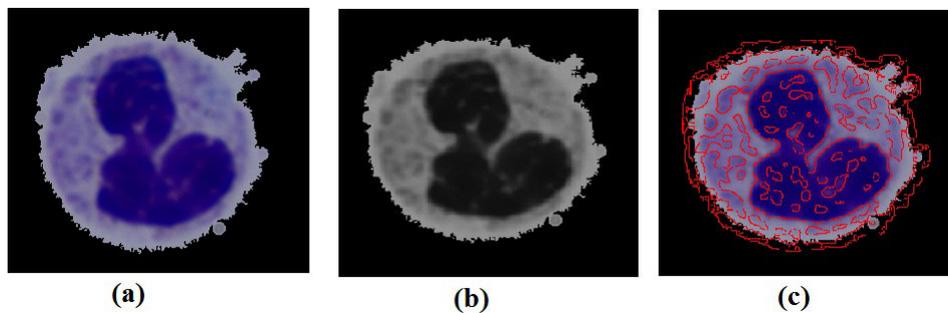


FIGURE 3.21 – Méthode ondelette pour la segmentation : (a) Image originale, (b) Image niveau de gris, (c) Résultat de segmentation

- *Harmoniques sphériques* : dans la littérature il existe différents modèles qui s'intéressent à la forme, tels que les harmoniques sphériques qui sont des fonctions harmoniques particulières (dont Laplacien est nul) définies sur la sphère unité. Dans cette approche, le développement appliqué aux fonctions angulaires est équivalent au développement en séries de Fourier pour les fonctions périodiques. Le *Modèle actif de Forme* (en anglais *Active Shape Models* ou *ASM*), basé sur une déformation itérative d'un modèle statistique de la forme d'un objet pour s'adapter à un exemplaire du même objet dans une image. Une forme moyenne est utilisée pour initialiser le processus puis elle est itérativement mise à jour jusqu'à convergence, ainsi la qualité de la segmentation dépendant de l'initialisation qui doit se faire à une distance relativement faible de la cible. Le *Modèle actif d'Apparence* (en anglais *Active Appearance Model* ou *AAM*) il s'agit d'une généralisation de la précédente approche (*ASM*) en utilisant toute l'information contenue

dans la région d'image de l'objet à segmenter. Un AAM peut se généraliser à n'importe quel exemple valide puisqu'il contient à la fois un modèle statistique de la forme et l'apparence de niveau de gris de l'objet.

Forme paramétrique : dans cette approche, la notion de contour actif est de faire évoluer un contour ou une surface vers les frontières de l'objet à segmenter, par des forces qui s'appliquent sur les points de contrôle du contour paramétré.

- *Contours Actif (Snake en anglais)* introduits par Kass en 1987 [Kass et al., 1988], formé d'une série de points mobiles et répartis sur une courbe en deux dimensions en utilisant un modèle déformable qui épouse la forme des objets afin de résoudre le problème de la segmentation et détection de contour en minimisant une fonctionnelle énergétique qui traduit les forces appliqués aux points de contrôle du contour. Différentes formes plus évoluées de l'approche existent, tels que les spline snakes de Leitner [Leitner et al., 1991], les B-splines et les R-snake basé sur les Gaussiennes rationnelles [Zagorchev et al., 2007]. La Figure 3.22 présente une étape intermédiaire de segmentation des cellules globules blancs en utilisant cette approche, après une phase de pré-traitement proposée par [Rezatofighi and Soltanian-Zadeh, 2011].

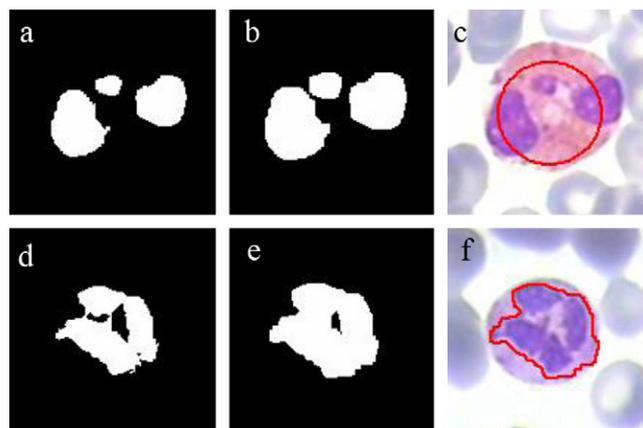


FIGURE 3.22 – Etape de segmentation : (a),(d) : noyaux segmentés, (b),(e) : Dilatation, (c),(f) : contour initial. [Rezatofighi and Soltanian-Zadeh, 2011]

Forme discrète : l'inconvénient majeur des méthodes contours actif (snake) réside dans l'incapacité de s'adapter aux changements de topologies. Pour cela, les contours actif non-paramétriques (implicites ou ensemble de niveau) ont été proposés, en s'inspirant des théories de la propagation des fronts et des interfaces entre fluides et/ou solides. Parmi les méthodes de contour actif non-paramétriques : Level Set Géométrique et Level Set Géodésique introduits par *Caselles et coll.* [Caselles et al., 1993, Caselles et al., 1997]. La Figure 3.23 présente une segmentation des noyaux des globules blancs en utilisant la ligne de partage des eaux et la méthode level set [Dorini et al., 2013].

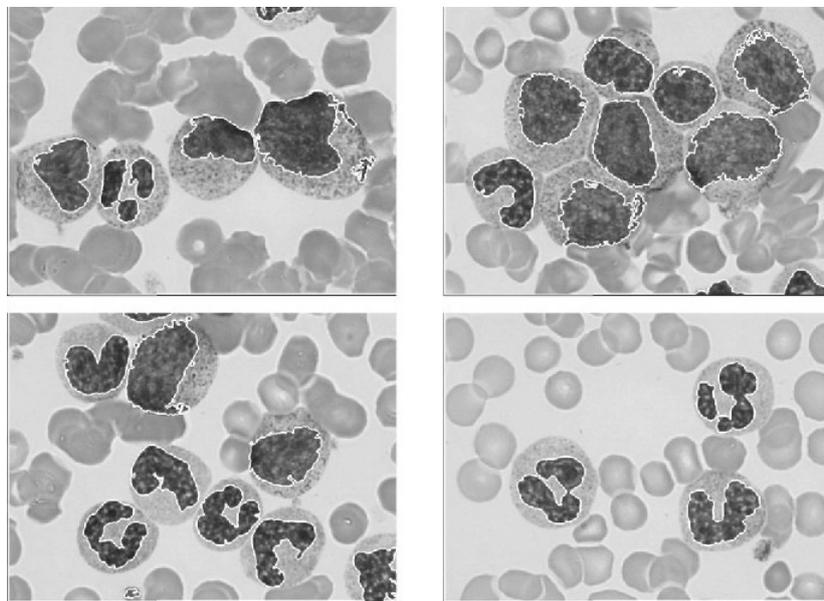


FIGURE 3.23 – Résultat de segmentation des noyaux des WBC [Dorini et al., 2013]

3.2.5 Théorie des Graphes

Cette approche est basée sur l'utilisation des techniques et outils développés dans le cadre de la théorie des graphes dans le domaine du traitement d'image. Ainsi, l'idée est de créer un graphe à partir de l'image à segmenter selon des procédés simples et de travailler sur ces graphes. L'étape importante dans ce processus est de valuer les arêtes afin de donner les caractéristiques de l'image au

graphe. Deux méthodes sont présentées : les hypergraphes et la méthode de coupe minimale de graphe.

- *Hypergraphes* : une généralisation de la notion de graphe introduite par *Claude Berge* [Berge, 1973] dans le sens où les arêtes relient un nombre quelconque de sommets compris entre un et le nombre de sommets de l'hypergraphe (voir Figure 3.24).

Soient $V = \{v_1, v_2, \dots, v_n\}$ un ensemble, $E = \{E_1, E_2, \dots, E_m\}$ une famille de parties V , avec $(m, n) \in \mathbb{N}^2$ deux entiers non nuls. Un hypergraphe H est un couple (V, E) tel que :

$$\forall i \in ([1, m] \cap \mathbb{N}) \quad E_i \neq \emptyset$$

$$\bigcup_{i=1}^m E_i \subseteq V$$

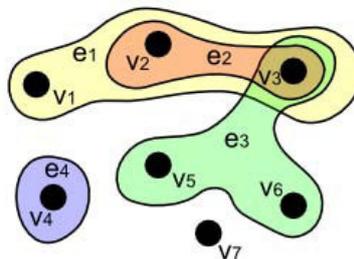


FIGURE 3.24 – Exemple d'Hypergraphe

3.3 Intégration de la couleur et de la texture

Dans plusieurs travaux et application d'analyses d'images (segmentation d'objets, indexation multimédia, compression,...etc) la couleur et la texture représentent les sources d'information les plus utilisées et leur combinaison est intéressante dans la mesure où elle permet d'améliorer les résultats de segmentation en comparaison à l'utilisation seule de l'une des deux sources. Dans cette section, nous présentons les principales méthodes de segmentation utilisant conjointement la

couleur et la texture [Ilea and Whelan, 2011, Attia, 2013], ces méthodes sont regroupées en trois catégories (intégration implicite, intégration successive (en cascade) et intégration lors de la segmentation).

3.3.1 Intégration implicite

Dans cette approche d'intégration l'information texture et couleur sont dépendantes et leur extraction se fait suivant trois cas différents (à partir d'un seul canal couleur, à partir d'une paire corrélées de composantes couleur, à partir d'une combinaison de composantes couleur). Dans ce qui suit, nous présentons un certain nombre de méthodes de segmentation faisant partie de cette catégorie, à savoir les méthodes CTM (Compression-based Texture Merging), MeanShift et Ncuts (Normalized cuts).

Compression-Based Texture Merging (CTM) : cette méthode présentée dans les travaux de *YANG et al.* [Yang et al., 2008] est basée sur une classification des attributs couleur/texture afin de segmenter les images en considérant ces attributs comme des données mélangées multivariées. Une conversion de l'image initiale dans l'espace CIE-Lab est effectuée afin de modéliser la distribution des attributs couleur et texture avec un mélange de distribution gaussiennes. Ainsi, l'espace CIE-Lab facilite la représentation de l'information texture sous la forme d'une gaussienne, contrairement à l'espace RGB où la relation entre les trois coordonnées est non linéaire. Ce mélange de distributions est ensuite classé en utilisant un classifieur ascendant basé sur une approche de compression de données avec perte. En effet, un filtre gaussien est appliqué sur une fenêtre 7×7 contenant les valeurs de l'intensité en chaque pixel de l'image des différentes composantes couleurs de l'espace CIE-Lab. Finalement, une analyse en composantes principales (ACP) est appliquée pour réduire la dimension du vecteur de descripteurs. La Figure 3.25 illustre la construction du vecteur d'attributs.

MeanShift : une méthode de segmentation introduite par *COMANICIU* [Comaniciu and Meer, 2002], utilisée dans plusieurs travaux et applications. L'algorithme est basé sur la concaténation des coordonnées spatiales et de l'information radiométrique de chaque pixel de l'image et qui sont sauve-

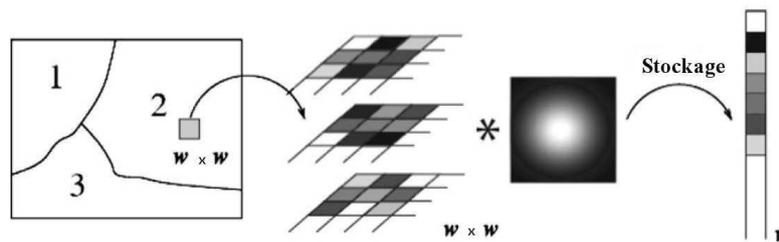


FIGURE 3.25 – Construction d’un vecteur d’attributs couleur/texture. Une fenêtre de taille $w \times w$ de chaque composante couleur de l’espace CIE-Lab est filtrée par un filtre gaussien. Les valeurs obtenues pour chaque composante couleur sont stockées dans un seul vecteur [Yang et al., 2008]

gardés dans un seul vecteur. Deux étapes principales sont appliquées : la première est le filtrage MeanShift afin de donner une convergence à chaque pixel, la seconde est la segmentation MeanShift pour grouper les pixels ayant une convergence inférieure à deux seuils (domaine spatial, domaine radiométrique).

Normalized Cuts (Ncuts) : il s’agit d’une méthode basée sur la théorie spectrale des graphes proposée par *SHI et MALIK* [Shi and Malik, 2000] où l’information couleur/texture est intégrée en utilisant un processus de regroupement de graphe. Ainsi, la segmentation d’images est traitée comme un problème de partitionnement de graphe en définissant un nouveau critère global Normalised Cuts, ce critère permet de mesurer la dissimilarité entre les différentes régions que la similarité totale dans ces régions. Différentes approches d’amélioration de cette approche sont présentées dans la littérature, à savoir [Cour et al., 2005] avec une extension de la méthode pour la segmentation des images multi-échelle.

Dans la littérature, il existe d’autres méthodes de segmentation faisant partie de cette catégorie d’intégration implicite [Shi and Funt, 2007, Hui et al., 2006]. Cette approche est liée aux premiers travaux d’analyse de la couleur et de la texture puisque l’extension des méthodes de segmentation utilisant la texture dans le contexte de l’image en niveaux de gris est effectuée en calculant les attributs texture dans chaque composante couleur. Ainsi, l’intégration implicite de la couleur et la texture est effectuée par des simples modèles. Cependant, la seconde caté-

gorie d'intégration couleur/texture présentée dans la section suivante est réalisée avec des modèles plus performants. Dans ce qui suit, quelques méthodes appartenant à cette approche sont présentées.

3.3.2 Intégration successive

L'idée principale de cette approche consiste à extraire l'information couleur et texture en série et ne pas avoir de règles explicites ou bien de modèles analytiques décrivant cette dépendance entre la couleur et la texture. Ainsi, la segmentation d'images est considérée comme étant une approche multi-phases avec le partitionnement de l'image du grossier au plus fin (Coarse-to-fine). Les principales méthodes de segmentation faisant partie de cette approche sont présentées ci-après (la méthode Jseg, Fusion Clustering Results (FCR), Texture and Boundary Encoding-based Segmentation (TBES)).

JSEG : méthode basée sur deux étapes indépendantes de segmentation d'image, introduite par *DENG et MANJUNATH* [Deng and Manjunath, 2001]. Dans la première étape, une carte de labels est créée en attribuant aux pixels les labels des nouvelles régions de l'image qui est partitionnée en régions représentatives sur la base d'une quantification couleur. Par la suite, la deuxième étape utilise une méthode de croissance de régions sur cette carte de labels pour segmenter l'image avec un nouveau critère de minimisation de coût associé au partitionnement de l'image et l'introduction de la notion de "J-image" afin d'indiquer l'emplacement des contours potentiels en mesurant l'homogénéité pour différentes échelles. Ainsi, la segmentation spatiale est réalisée avec une croissance de régions à partir des germes du J-image. La Figure 3.26 illustre les différentes étapes de l'algorithme Jseg [Deng and Manjunath, 2001].

Fusion Clustering Results (FCR) : la stratégie de segmentation proposée par *MIGNOTTE* [Mignotte, 2008] est basée sur la combinaison de différents modèles de partitions de l'image originale au lieu d'élaborer une nouvelle méthode de segmentation. Cette stratégie consiste à réaliser d'abord, ensuite fusionner des partitions grossières sur l'image originale dans différents espaces couleur en utilisant l'algorithme K-moyennes avec comme attributs

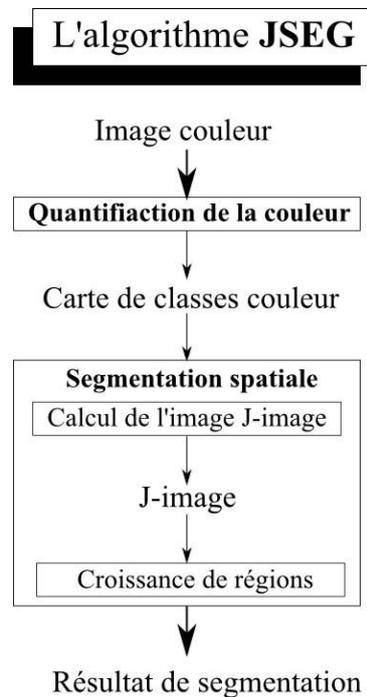


FIGURE 3.26 – Principe de l’algorithme Jseg

d’entrée les histogrammes locaux des images grossièrement segmentées.

La première étape dans cette méthode consiste à appliquer l’algorithme de classification k-moyennes sur l’image originale afin d’obtenir les cartes de segmentation initiales en utilisant différents espaces couleur et des descripteurs de texture multidimensionnels calculés à partir des histogrammes de couleur sur un voisinage de chaque pixel à classer. Dans les travaux de [Mignotte, 2008] six espaces couleur ont été utilisés (*RGB*, *HSV*, *YIQ*, *XYZ*, *LAB* et *LUV*) ce qui revient à exploiter six partitions initiales.

La deuxième phase est la fusion des cartes de partitions en considérant l’histogramme local des labels de chaque partition comme vecteur de descripteurs. Par conséquent, cette procédure de fusion est considérée comme une segmentation d’histogrammes locaux des segmentations initiales en utilisant l’algorithme des k-moyennes en exploitant une mesure de similarité entre les histogrammes.

Texture and Boundary Encoding-Based Segmentation (TBES) : cette nouvelle

méthode proposée par *RAO et al.* [Rao et al., 2009] consiste à modéliser les régions homogènes de texture avec une distribution gaussienne et à coder les contours par une chaîne de code adaptative. Par conséquent, les codes les plus courts utilisés pour le codage des différents contours et textures de l'image correspondent à la segmentation optimale par un processus de regroupement hiérarchique des blocs de l'image. L'étape d'intégration de la couleur consiste à convertir l'image initiale codée dans l'espace *RGB* dans l'espace couleur *Lab*, ensuite les attributs de texture sont extraits en appliquant le codage des régions de texture homogènes et de leurs contours [Rao et al., 2009].

Dans cette approche d'intégration nous avons cités juste quelques méthodes de segmentation, il existe d'autres travaux et méthodes opérant selon l'intégration successive (cascade) de la couleur et la texture [Krinidis and Pitas, 2009, Hedjam and Mignotte, 2009]. Bien que cette approche d'intégration a donné de bons résultats de segmentation d'image, son inconvénient réside dans la difficulté de sa généralisation.

3.3.3 Intégration lors du processus de segmentation

Dans le but de réduire les limites de l'intégration successive (cascade) citées précédemment, l'approche basée sur l'intégration lors du processus de segmentation a été introduite. L'idée de base des méthodes faisant partie de cette approche consiste à extraire les attributs couleur et texture séparément et les modéliser différemment pour une analyse statistique. L'avantage de cette approche par rapport aux deux autres catégories précédemment citées, est la possibilité d'optimiser la contribution des attributs couleur et texture pendant la phase d'intégration dans le processus de segmentation d'image. Ces méthodes peuvent être divisées en deux sous-catégories :

- La première concerne les méthodes de combinaison couleur/texture en utilisant des techniques de traitement des régions tel que la décomposition/fusion [Chen and Chen, 2002, Nammalwar, 2010], la croissance de région [Ugarriza et al., 2009] et les contours actifs [Kim and Hong, 2009, Brox et al., 2010].

- La second est basées sur des techniques statistiques pour l'intégration d'attributs [Ilea and Whelan, 2009, Hanbury and Marcotegui, 2009] et probabilistes [Serrano and Acha, 2009]. Aussi, les algorithmes de détection de contours et les techniques d'apprentissage ont également été utilisés dans le même cadre de segmentation conjointe couleur/texture. Pour de plus amples informations sur ces méthodes et algorithmes, les travaux de *DOUHA et al.* [Attia, 2013] décrivent quelques-unes d'entre elles avec plus de détails.

Dans cette section nous avons présenté trois catégories de méthodes de segmentation d'images utilisant conjointement la couleur et la texture. La première procède par intégration implicite de l'information couleur/texture, la deuxième par intégration successive et la troisième lors du processus de segmentation. Cependant, chaque méthode comporte bien évidemment ses propres avantages et inconvénients. Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à la deuxième catégorie d'intégration qui se voit simple et efficace, nous avons proposé dans la suite de ce manuscrit une méthode de combinaison couleur/texture réalisant l'intégration des attributs en cascade pour la segmentation d'images microscopiques par la méthode LPE (ligne de partage des eaux) avec des contraintes marqueurs basées sur la couleur suivi par une classification des régions utilisant l'information texture et forme.

3.4 Évaluation de la segmentation

L'étape de segmentation est essentielle dans le processus de traitement d'image, ainsi l'étape de reconnaissance et d'interprétation dépend principalement de la segmentation correcte des images. Par conséquent, une évaluation des résultats de segmentation est cruciale afin de comparer les performances de différents algorithmes et de choisir une méthode en fonction d'un problème donné.

Dans le domaine médical, l'évaluation visuelle de résultats de segmentation est encore présente, cependant la mise en œuvre de ce type d'évaluation s'avère longue et fastidieuse pour les experts, cette méthode est subjective. De ce fait, une évaluation automatique et quantitative des résultats de segmentation est essentielle.

Dans cette section, nous présentons différentes méthodes d'évaluation existantes dans la littérature que nous regroupons en deux classes correspondant respectivement aux méthodes d'évaluation sans et avec vérité terrain. Puis nous présentons une méthode d'évaluation spécialement adaptée à la segmentation d'images microscopiques [Meurie, 2005, Lezoray, 2000].

3.4.1 Évaluation sans vérité terrain (non supervisée)

Cette approche se focalise sur la quantification de la qualité des résultats de segmentation sans aucune connaissance a priori à partir des statistiques calculées sur chaque région détectée comme la variation de couleur intra-régions, de contraste inter-régions. Il est avantageux d'utiliser ces critères dans des domaines d'application où la construction d'une base de vérité terrain (segmentation de référence) est délicate ou trop coûteuse en temps.

Différents critères ont été proposés dans la littérature. Dans cette section, nous présentons les principaux critères traitant de l'évaluation de segmentation sans vérité terrain et qui sont regroupés en deux grandes catégories : les critères de "contraste" qui cherchent une variabilité inter-région à savoir :

- Contraste inter-région de *LEVINE et NAZIF* ;
- Contraste de *ZEBOUDJ* ;
- critère de *ROSENBERGER*.

La seconde catégorie concerne les critères "d'adéquation à un modèle" qui cherchent une uniformité en intensité (ou couleur) à l'intérieur des régions, parmi lesquels nous présentons le critère d'uniformité intra-région de *LEVINE et NAZIF*, le critère de dissimilarité de *LIU et YANG*, et celui de *BORSOTTI et al.*

Contraste inter-région de *LEVINE ET NAZIF* [Levine and Nazif, 1985] : ce cri-

tère est noté C_{LN}^{inter} représente le contraste globale calculé à partir de la somme des contrastes des régions R_i pondérée par un poids associé à chaque région qui peut être l'aire de la région A_i . Il est donné par l'équation suivante :

$$C_{LN}^{inter} = \frac{\sum_{R_i} A_i C_i}{\sum_{R_i} A_i}$$

où C_i représente le contraste de la région R_i et est donné par $C_i = \sum_{R_j} \frac{l_{ij}}{l_i} C_{ij}$

avec : R_j qui représente les régions adjacentes à R_i ;

l_{ij} la longueur de la frontière commune entre R_i et R_j ;

l_i le périmètre de la région R_i ;

$C_{i,j}$ le contraste entre deux régions adjacentes R_i et R_j donné par $\frac{|m_i - m_j|}{|m_i + m_j|}$

avec m_i et m_j les moyennes.

Contraste de ZEBOUJ [Cocquerez and Philipp-Foliguet, 1995] : cet indice noté C_Z prend en compte le contraste intérieur et extérieur aux régions mesurés sur un voisinage de chaque pixel.

$$C_Z = \frac{1}{A} \sum_i A_i \times C(R_i)$$

A_i correspond à l'aire de la région R_i , $C(R_i)$ calcule le contraste extérieur et intérieur d'une région R_i .

Critère de ROSENBERGER [Chabrier et al., 2004] : ce critère est basé sur le calcul de la disparité intra-région et inter-région globale notées \underline{D} et \overline{D} respectivement, dans le but de résoudre le problème contenant des textures. Ainsi, chaque région est caractérisée en région texturée ou uniforme sur la base des matrices de cooccurrences. Le critère de *Rosenberger* est égal à :

$$\frac{\overline{D} - \underline{D}}{2}$$

Critère d'uniformité intra-région de LEVINE et NAZIF [Levine and Nazif, 1985]

: ce critère C_{LN}^{intra} est basé sur la somme des variances des régions et doit donc être faible.

$$C_{LN}^{intra} = \sum_i \frac{\sigma_i^2}{\sigma_{max}} = \sum_i \sum_{s \in R_i} \left(f(s) - \frac{1}{A_i} \sum_{s \in R_i} f(s) \right)^2$$

où $f(s)$ est l'intensité du pixel s , A_i l'aire de la région R_i et σ_{max} un facteur de normalisation égal à $\frac{(f_{max}-f_{min})^2}{2}$.

Critère de dissimilarité de LIU ET YANG [Liu and Yang, 1994] : ce critère noté C_{LY} est basé sur le nombre de régions, l'aire des régions et la couleur moyenne, dans l'espace RGB :

$$C_{LY} = \frac{1}{1000 \times A} \sqrt{N} \sum_{i=1}^N \frac{e_i^2}{\sqrt{A_i}}$$

Où :

- A_i : représente le nombre de pixels de la région R_i et N le nombre régions segmentée ;
- A : est le nombre total de pixel de l'image ;
- e_i^2 : est l'erreur quadratique portant sur la couleur de la région R_i (la moyenne des couleurs de la région R_i).

Critère BORSOTTI ET AL [Borsotti et al., 1998] : la mesure de dissimilarité de *Liu et Yang* pénalise les segmentations contenant trop de régions ou avec des régions non homogènes en couleur, l'amélioration de ce critère et l'indice de *Borsotti et al.* noté C_B basé sur les mêmes paramètres mais avec une formulation améliorée :

$$C_B = \frac{1}{1000 \times A} \sqrt{N} \sum_{i=1}^N \left[\frac{e_i^2}{1 + \log A_i} + \frac{R(A_i)^2}{A_i^2} \right]$$

Avec :

- $R(A_i)$: le nombre de régions ayant une aire égale à A_i ;
- e_i^2 : il s'agit du même paramètre calculée dans le critère précédent de *LIU*

ET YANG ;

- $\frac{e_i^2}{1+\log A_i}$: le terme qui favorise les régions homogènes ;
- $\frac{R(A_i)^2}{A_i^2}$: le terme qui pénalise les images sur-segmentées avec beaucoup de régions de tailles similaires.

3.4.2 Évaluation avec vérité terrain (supervisée)

Dans cette approche, les résultats de segmentation sont évalués en considérant des connaissances a priori sur les objets à identifier qu'on appelle "vérité terrain" qui est obtenue grâce à des experts du domaine. Cependant, cette segmentation de référence est parfois difficile à acquérir et nécessite un temps excessif pour délimiter finement les pourtours de régions dans une seule image en raison de présence de bruit lors de l'acquisition et la précision imposée qui est de l'ordre de quelques pixels.

Nous présentons maintenant les quatre méthodes d'évaluation avec vérité terrain que nous retrouvons le plus souvent dans la littérature et qui sont basées sur une mesure de similarité entre l'image segmentée et sa vérité terrain.

Mesure de Vinet [Cohen et al., 1989] : basée sur la détermination des couples de régions assurant un recouvrement maximum entre la vérité terrain et le résultat de segmentation. La mesure de dissimilarité de *Vinet* est caractérisée par la proportion de pixels ne participant pas au recouvrement des couples de régions, bien que le couplage ne soit pas nécessairement unique cette mesure est une distance.

Mesure de Martin [Martin, 2002] : mesure la cohérence entre deux segmentations d'une même image, l'une de référence et l'autre obtenue par un algorithme. Elle est basée sur deux erreurs calculées en chaque pixel : l'erreur locale de cohérence et l'erreur globale de cohérence.

Mesure de Yasnoff et al [Yasnoff et al., 1979] : dénombre le nombre de pixels mal segmentés en considérant leur position en utilisant par exemple la distance entre un pixel mal segmenté et la région à laquelle il appartient dans l'image de référence.

Distance de Baddeley [Wilson et al., 1997] : cette distance prend en compte la position et l'intensité dans une image. Dans cette méthode, une distance de

Chanfrein peut être utilisée au lieu de la distance *Euclidienne*. il existe une extension de cette distance pour les images couleur [Coquin et al., 2002].

3.4.3 Une méthode d'évaluation adaptée à la cytologie

Dans le domaine médical et particulièrement dans un système d'aide à la décision, l'évaluation des résultats est essentielle pour un diagnostic fiable. La méthode d'évaluation que nous allons utiliser a été présentée et développée pour une application en microscopie cellulaire [Lezoray, 2000, Meurie, 2005, Benazzouz, 2014].

L'utilisation d'images microscopiques nécessite des critères d'évaluation plus performant que ceux précités et adaptés au type d'images à traiter, en incluant pour chaque type d'objet le nombre de pixels correctement identifiés ou non et prenant en compte l'importance d'un objet qui n'aurait pas été segmenté, on se basant sur un appariement des pixels des images segmentées et vérité terrain. Pour évaluer la précision d'une segmentation d'image de cytologie sanguine ou médullaire les frontières cytoplasmiques et nucléaires de toutes les cellules sont d'abord déterminées manuellement, la Figure 4.2 représente une image vérité terrain (segmentation de référence) de notre base d'image. Ensuite, comparer les résultats de segmentation avec cette vérité en calculant le nombre de pixels correctement identifiés et les pixels mal classés. Nous présentons ci-dessous les critères d'évaluation les plus communément utilisés :

Matrice de confusion deux classes :

		Réal	
		Positive	Negative
Prédit	Positive	<i>TP</i>	<i>FP</i>
	Negative	<i>FN</i>	<i>TN</i>

Par définition en classification binaire, un résultat est dit :

- Vrai Positif (True Positif "TP") lorsqu'un pixel est correctement détecté positif par le test ;
- Faux Positif (False Positif "FP") lorsqu'un pixel déclaré positif alors qu'il ne l'était pas ;

- Faux Négatif (False Negatif "FN") lorsqu'un pixel déclaré négatif alors qu'il était en réalité positif ;
- Vrai Négatif (True Negatif "TN") lorsqu'un pixel est correctement détecté négatif par le test.

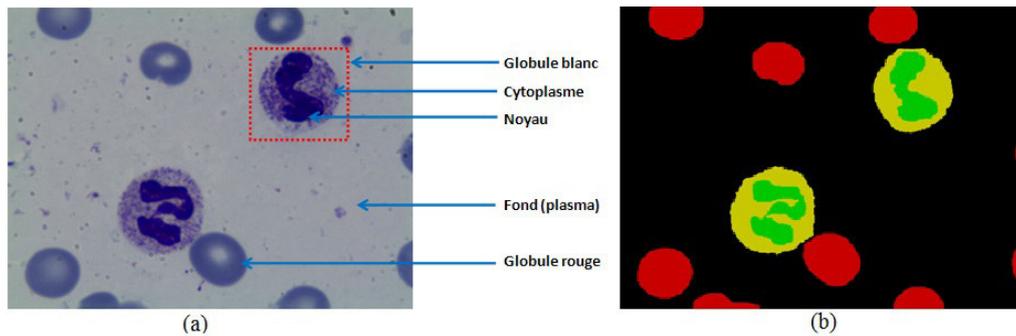


FIGURE 3.27 – Exemple d'image cytologique (a) image réelle, (b) vérité terrain

Précision, Rappel et Accuracy :

- *Précision* : est le nombre de vrais positifs divisé par le nombre total d'éléments étiquetés comme appartenant à la classe positive, cet indicateur permet d'évaluer dans quelle mesure la structure recherchée correspond quantitativement et qualitativement à la segmentation.
- *Rappel* : dans ce contexte il est défini comme le nombre de vrais positifs divisé par le nombre total d'éléments qui appartiennent réellement à la classe positive.

$$Precision = \frac{TP}{TP + FP}$$

$$Rappel = \frac{TP}{TP + FN}$$

$$Accuracy = \frac{TP + TN}{TP + FN + FP + TN}$$

Matrice de confusion Multi-classes :

		Réal					
		C_1	C_2	...	C_i	...	C_n
Prédit	C_1	c_1^1	c_1^2		c_1^i		c_1^n
	C_2	c_2^1	c_2^2		c_2^i		c_2^n

	C_i	c_i^1	c_i^2		c_i^i		c_i^n

	C_n	c_n^1	c_n^2		c_n^i		c_n^n

- Prédiction correcte : c_i^i
- Prédiction incorrecte : c_i^j avec $i \neq j$

$$Rappel(c_i) = \frac{c_i^i}{\sum_{j=1}^n c_j^i}$$

$$Precision(c_i) = \frac{c_i^i}{\sum_{j=1}^n c_i^j}$$

$$Accuracy = \frac{\sum_{j=1}^n c_i^i}{\sum_{i,j=1}^n c_i^j}$$

La méthode d'évaluation que nous proposons permet de dissocier l'indice de qualité sur la reconnaissance du cytoplasme par rapport à celui du noyau puisque celles-ci représentent la région d'intérêt.

3.5 Approche de segmentation proposée

La segmentation est une étape difficile et déterminante dans la chaîne d'un système automatique de tri cellulaire en cytologie, ainsi le traitement doit être adapté au contexte. Nous disposons d'images microscopiques de cytologie constituées de globules blancs (leucocytes), de globules rouges (hématies), de plaquettes et de plasma (fond). Le leucocyte est formé d'un noyau et d'un cytoplasme, la figure 3.28 montre deux images microscopiques de notre base d'image 1.4 où les cellules les plus présentes sont des globules rouges et des globules blancs. Comme défini précédemment dans le chapitre de la couleur et de la texture 2, chacun représente une source d'information parfaite pour la segmentation des composantes cellulaires ou bien la caractérisation et la classification des cellules que nous allons définir dans le chapitre suivant. Cependant ces images sont souvent complexes en raison de la prolifération, de la maturation, des variations de formes et de dimensions des cellules. Par conséquent il est nécessaire de réaliser un modèle d'identification des globules blancs (white blood cells WBC) qui exploite et qui combine ces informations.

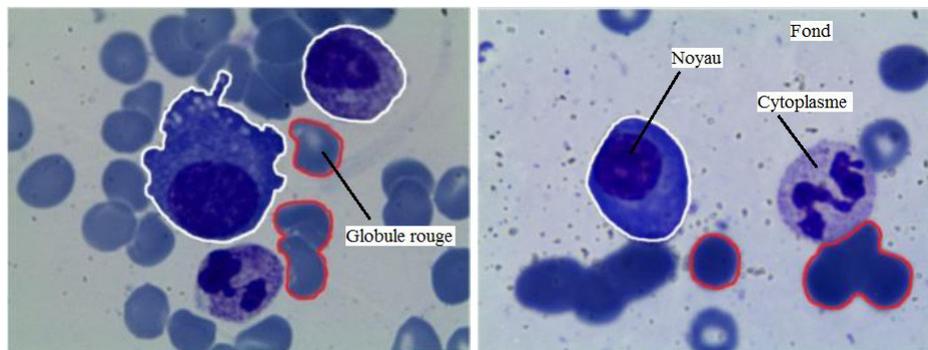


FIGURE 3.28 – Exemple d'images microscopiques de cytologie : certains globules blancs sont entourés de contour blanc et les globules rouges en rouge

Notre modèle automatique de tri cellulaire en cytologie est présenté dans la figure 4.3, les principales étapes de notre système sont : le prétraitement (pre-processing) des images couleurs, la segmentation des cellules (WBC) et finalement la classification automatique des globules blancs. Nous présentons dans un premier temps notre étape de prétraitement couleur et par la suite l'étape de seg-

mentation. Finalement, nous présentons les résultats d'expérimentations de notre approche de segmentation. Pour ce qui est de la suite du traitement, le dernier chapitre est consacré à l'étape classification cellulaires.

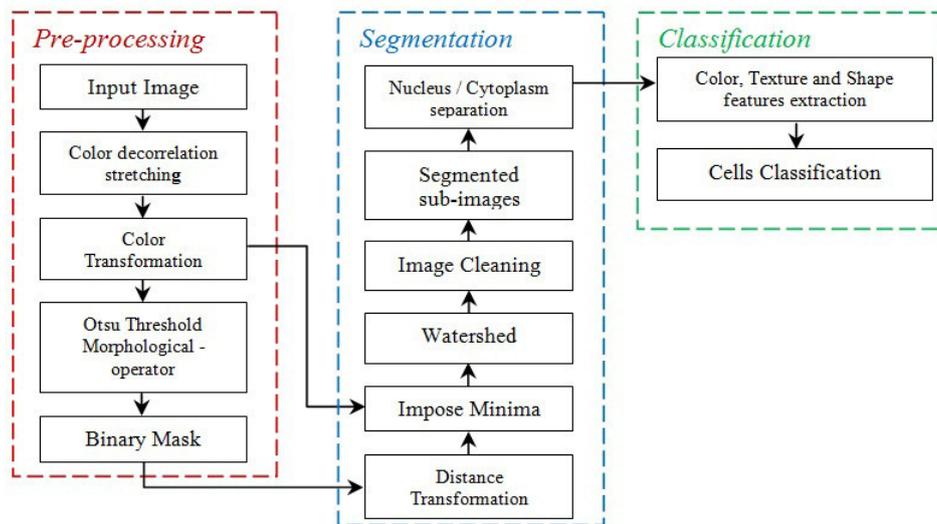


FIGURE 3.29 – Système proposé pour le tri cellulaire en cytologie

3.5.1 Prétraitement (pre-processing)

Les images microscopiques de cytologie sanguine et médullaire sont représentées dans l'espace colorimétrique RVB (voir figure 3.28), ainsi l'exploitation efficace de ces caractéristiques est nécessaire. En effet, plusieurs travaux [Arslan et al., 2014, Benazzouz et al., 2013, Putzu and Di Ruberto, 2013] concluent que la réduction des images en niveaux de gris produit de faibles résultats de segmentation. Cependant, les images cytologiques souffrent d'un éclairage et d'une coloration inégaux pendant le processus d'acquisition. De plus, les globules blancs présentent souvent certaines complications dues aux variations du contraste, de la texture et de la morphologie des cellules. Par conséquent, une étape de prétraitement est nécessaire afin d'améliorer les images et obtenir une segmentation robuste et cohérente pour un grand ensemble d'image.

Notre technique de prétraitement d'image couleur est réalisée en deux phases :

Decorrelation Stretch [Gillespie et al., 1986]

Nous avons constaté que les régions nucléaires sont plus contrastées par rapport aux autres régions de l'image (voir figure 3.28). De plus, ces régions présentent de très faibles valeurs pour le canal vert (green), dans l'espace couleur RVB, par rapport aux autres régions cellulaires et souvent le cytoplasme des globules blancs est très similaire aux globules rouges adjacents (voir figure 3.30). Par conséquent, une décorrélation des composantes couleurs (Rouge, Vert et Bleu) de l'image initiale est nécessaire pour améliorer la différence colorimétrique en projetant les valeurs des composantes couleurs dans un nouvel espace couleur (voir chapitre 2.3.4 pour plus de détails sur la méthode). En illustration, la figure 3.31 présente une image cytologique couleur avec la répartition initiale des pixels dans l'espace RVB où les points (pixels) sont fortement corrélés et concentrés (voir figure 3.31(b)). Contrairement au résultat après l'application de la méthode decorrelation-stretch [Gillespie et al., 1986] on peut remarquer une nette différence d'intensité entre les régions d'intérêt, à savoir : les globules rouges et les globules blancs. Ainsi, la répartition des pixels décorrélés qui remplissent l'espace colorimétrique (voir figure 3.31(d)).

En illustration, nous présentons sur la figure 3.32 un ensemble d'images cytologiques et le résultat de l'application de la méthode decorrelation-stretch [Gillespie et al., 1986].

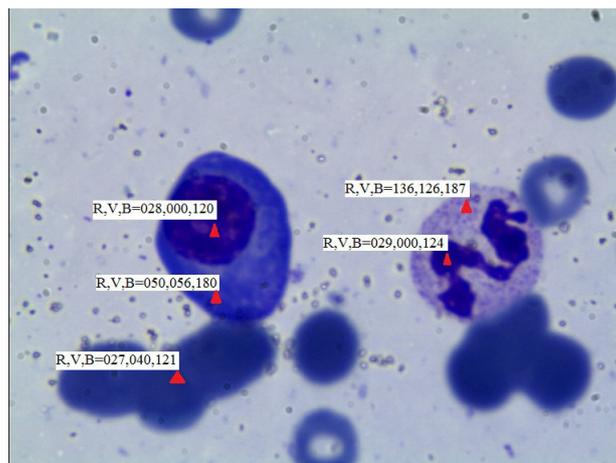
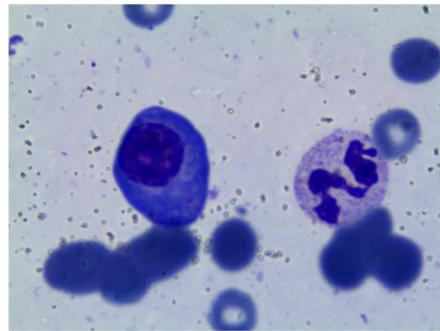
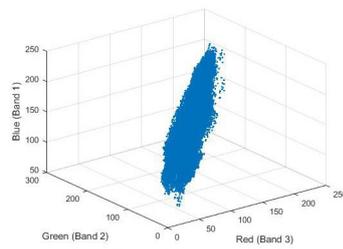


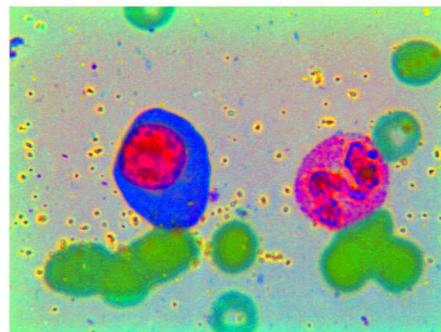
FIGURE 3.30 – L'intensité des pixels dans l'espace RGB par région d'intérêt



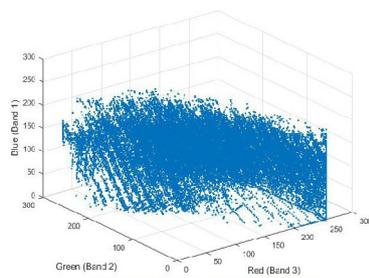
(a) Image originale



(b) Distribution des pixels RGB de (a)



(c) Decorrelation stretching



(d) Distribution des pixels RGB de (c)

FIGURE 3.31 – Exemple d’une image cytologique RGB : a) image originale, b) Distribution des pixels RGB de l’image originale, c) Image améliorée (decorrelation stretching), d) Distribution des pixels RGB de l’image (c)

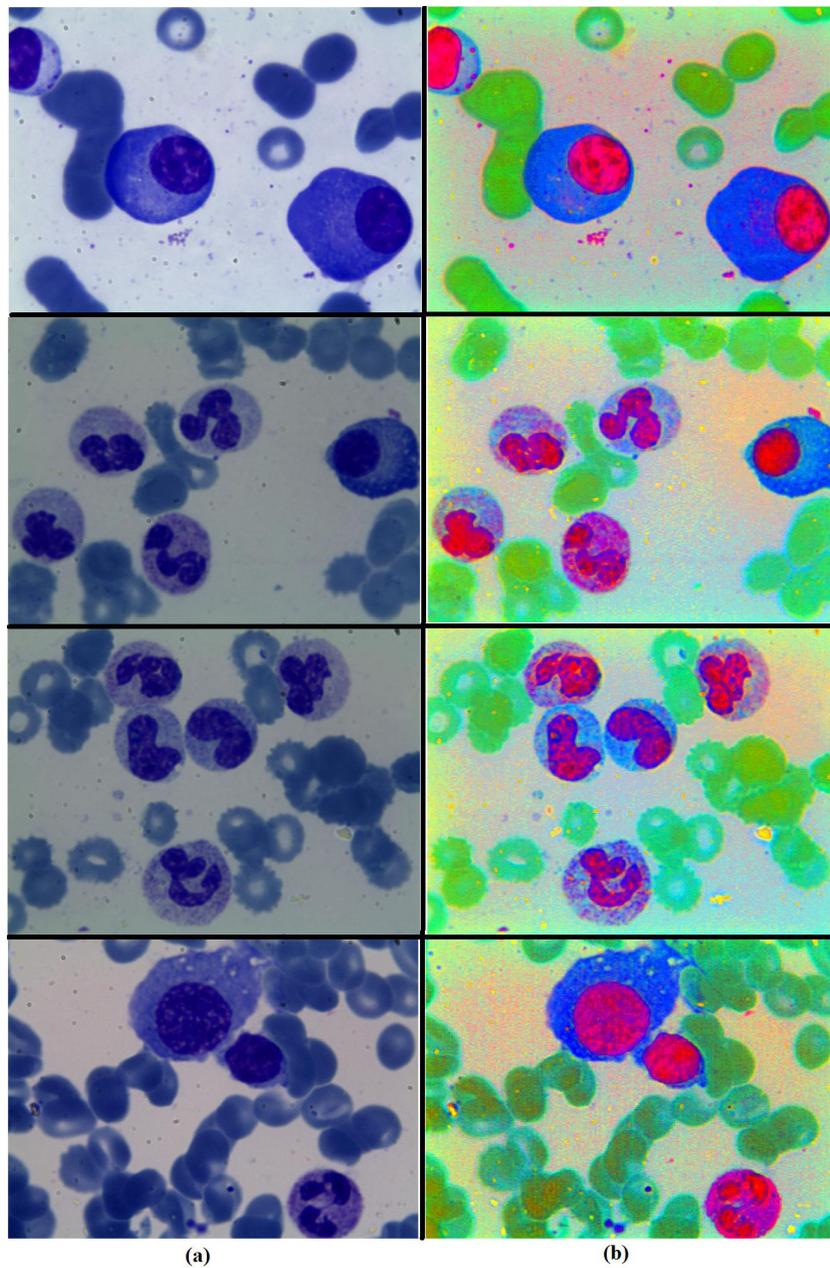


FIGURE 3.32 – Ensemble d’images cytologiques : a) image originale, b) Image Decorrelation stretching

Transformation couleur

Après l’étape de decorrelation stretch, les régions globules rouges présentent des valeurs d’intensité importante dans le canal vert en comparaison avec les ré-

gions noyau et cytoplasme qui ont des valeurs d'intensité élevées dans le canal rouge et bleu (voir figure 3.33). Conséquemment, nous proposons une nouvelle transformation couleur afin de mettre en évidence les pixels des régions d'intérêts (noyau et cytoplasme) en supprimant avec succès la quasi-totalité des pixels des régions autre que les globules blancs tout en préservant les intensités des cellules. Soit I l'image résultante de l'étape précédente (decorrelation stretch), I_R , I_G et I_B dénotent le canal rouge, vert et bleu respectivement dans l'espace RVB de cette dernière image. la transformation I_E est décrite comme suit :

$$I_E(x, y) = \begin{cases} T(x, y), & \text{si } T(x, y) > 0 \\ 0, & \text{otherwise} \end{cases}$$

Avec

$$T(x, y) = (I_R(x, y) + I_B(x, y)) - I_G(x, y)$$

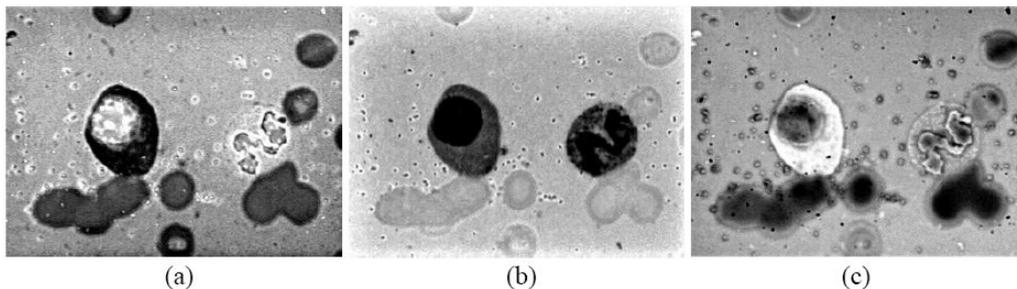


FIGURE 3.33 – Résultat de decorrelation stretch : (a) canal rouge, (b) canal vert, (c) canal bleu

la figure 3.34(a) présente l'image résultante après la transformation couleur où les globules blancs possèdent une intensité plus importante que les globules rouges et le fond, ce qui simplifie la segmentation des cellules WBC avec un simple seuillage *Otsu* [Otsu, 1979] afin d'obtenir un masque binaire contenant les régions des globules blancs comme illustré dans la figure 3.34(b). Pour affiner les frontières cellulaires et enlever les petits artefacts sur le fond, nous appliquons des opérateurs morphologiques (dilatation et érosion) comme l'indique la figure 3.34(c). Néanmoins, le masque binaire obtenu peut contenir quelques cellules non globules blancs (faux positives) ou des globules rouges endommagées comme

indiqué dans la figure 3.35, ces artefacts sont éliminés dans l'étape de segmentation en utilisant des descripteurs de la couleur, de la texture et de la forme.

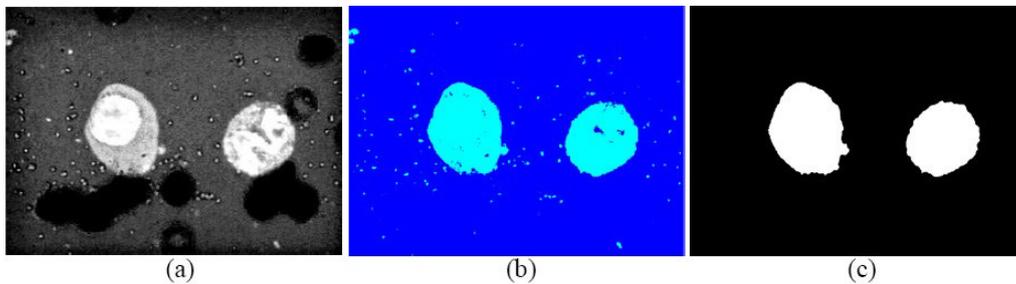


FIGURE 3.34 – Transformation couleur : (a) nouvelle image d'intensité, (b) Image après seuillage, (c) Masque binaire traité

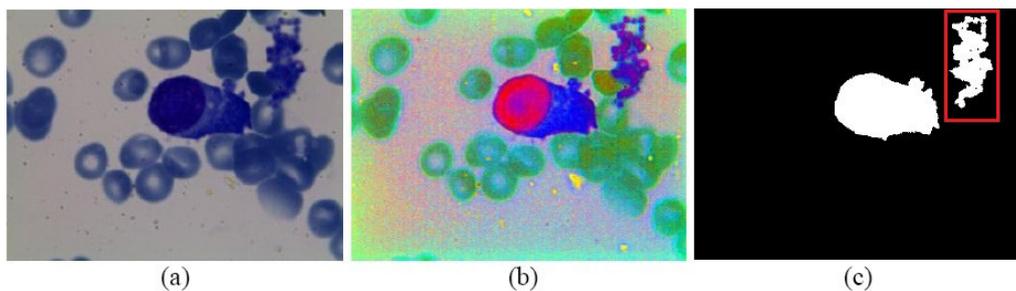


FIGURE 3.35 – Exemple d'image avec des artefacts : (a) image initiale, (b) image decorrelation stretch, (c) masque binaire avec artefacts

3.5.2 Segmentation

Le modèle de segmentation proposé est basé sur une combinaison et intégration successive de l'information couleur et texture ; une segmentation est réalisée avec l'algorithme de la ligne de partage des eaux contrainte par marqueurs que nous avons présentée dans le chapitre 2, qui utilise l'image d'intensité après transformation couleur avec une carte de distance, suivi par une étape de filtrage et nettoyage pour éliminer les artefacts en utilisant le classifieur des forêts aléatoires (Random Forest) avec des attributs de texture, de couleur et de forme.

La ligne de partage des eaux contrainte par marqueurs

Marker controlled watershed en Anglais, est un outil puissant pour segmenter les images complexes, nous avons choisi de baser notre segmentation sur une méthode watershed bien particulière qui utilise une transformation de distance et d'intensité [Arslan et al., 2014]. Cette stratégie de segmentation permet de séparer les cellules accolées. Comme entrée à cette étape nous disposons du masque binaire issu de l'étape de prétraitement ainsi que la nouvelle image d'intensité (voir figure 4.3). Dans le masque binaire on trouve que des globules blancs (isolées, se chevauchant ou accolées) et éventuellement des artefacts (voir figures 3.36 et 3.35).

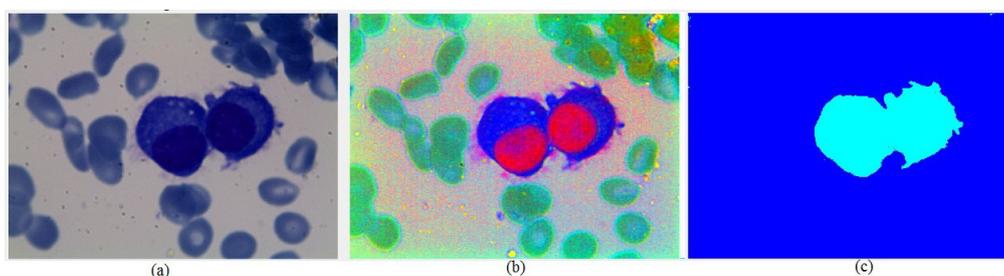


FIGURE 3.36 – Exemple d'image après pré-traitement : (a) image RVB initiale, (b) image decorrelation stretch, (c) masque binaire

Afin d'exprimer les variations dans les contours des globules blancs, nous avons calculé, pour chaque pixel d'une région cellulaire, la distance euclidienne minimale à la bordure cellulaire correspondante (les pixels du fond). Formellement, soit F et B deux ensembles de pixels appartenant respectivement à une région du fond et une région cellulaire avec une frontière commune dans le masque binaire, $p = (x_p, y_p)$ et $q = (x_q, y_q)$ deux pixels appartenant à F et B . La transformation de distance $\Delta(p, F)$ est définie comme suit :

$$\Delta(p, F) = \min_{q \in B} \{d(p, q), \quad p \in F\}$$

Où $d(p, q)$ est la distance euclidienne entre p et q . Par conséquent les maximums de cette distance correspondent au centre de chaque cellule et les minimums représentent les points reliant les cellules accolées (voir Figure 3.37(a)). Notons

que nous utiliserons cette carte de distance dans la définition des marqueurs et la fonction potentielle de l'algorithme de ligne de partage des eaux contrainte par marqueurs où l'identification des marqueurs constitue l'étape principale de cet algorithme étant donné qu'un marqueur correspond à l'emplacement estimatif d'une cellule à partir du quel le processus d'inondation d'une surface topographique (bassin) débute .

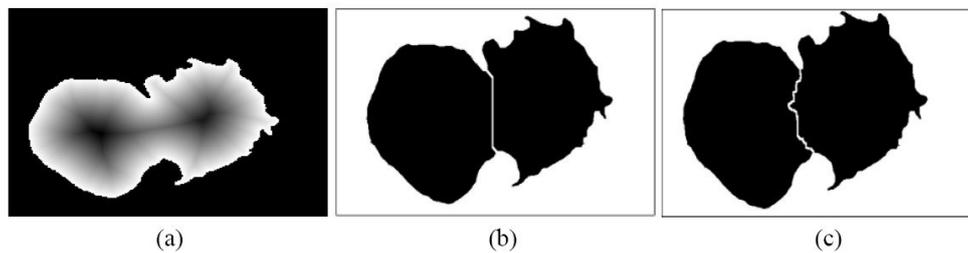


FIGURE 3.37 – Séparation de deux cellules accolées : (a) la fonction distance, (b) résultat LPE avec la carte de distance, (c) résultat LPE en combinant la carte de distance et d'intensité [Benomar et al., 2018]

Dans l'objectif d'obtenir les marqueurs de chacune des cellules qui sont les érodés ultimes de l'image de distance, une reconstruction morphologique de taille 2 sur la carte de distance est calculée en fournissant une composante connexe pour chaque cellule.

Dans un premier temps, nous utilisons une LPE sur l'inverse de l'image de distance en imposant l'ensemble des marqueurs déjà calculé comme minima régionaux, chaque bassin devenant ainsi soit une cellule soit le fond de l'image. Voici le principe résumé :

1. Calculer la carte de distance du masque binaire ;
2. Calculer les érodés ultimes de l'image de distance (marqueurs) et l'inverse de la carte de distance pour avoir les bassins versants ;
3. Calculer la LPE contrainte par marqueurs sur l'inverse de la carte de distance avec comme marqueurs les érodés ultimes.

Un exemple de séparation des cellules est donné par la figure 3.37(b). Par ce procédé de séparation, les cellules accolées sont séparées mais les frontières (bordures) obtenues sont imprécises (typiquement dentelées) en particulier lorsque les

marqueurs ne sont pas localisés avec précision, de plus les tailles et les formes des cellules sont différentes. En effet, ces frontières représentent les lignes de partage des eaux définies par la crête qui forme la limite entre deux bassins versants, c'est-à-dire l'ensemble des points équidistants des marqueurs et qui n'appartiennent à aucun bassin d'attraction. Pour pallier à ce dernier inconvénient, nous intégrons la nouvelle image d'intensité, après la transformation couleur, dans le processus de définition des bassins versants [Arslan et al., 2014] pour une segmentation précise. Ceci a été accompli en combinant les caractéristiques de couleurs et de forme des globules blancs à travers les transformations de distance et de couleur que nous avons définies. Soit R l'ensemble des minima régionaux dans l'inverse de la carte de distance Δ , I_M l'image d'intensité, les deux définies dans le domaine 2D $\Omega \rightarrow R^2$ avec $(x, y) \in \Omega$. Ainsi pour chaque pixel la transformation $\Phi(x, y)$ est définie comme suit :

$$\Phi(x, y) = R(x, y) \cdot I_M(x, y)$$

En considérant les marqueurs comme les points de départ, cette fonction est utilisée dans le processus d'inondation watershed afin d'obtenir les lignes de partage des eaux.

La figure 3.37 compare les frontières cellulaires obtenues avec la carte de distance seulement et lorsqu'une combinaison de carte de distance et d'intensité est utilisée. Les frontières obtenues sont plus naturelles et réelles.

Il est à noter que cette méthode améliore la segmentation des pixels sur les frontières des cellules qui représentent un pourcentage très faible par rapport au nombre total des pixels de la cellule entière, ainsi une légère amélioration des taux d'erreurs durant les expériences est constatée. Cependant, cette amélioration dans la segmentation des frontières cellulaires est importante pour l'étape de caractérisation et classification des globules blancs afin de calculer des descripteurs morphologiques des cellules.

Classifieur de type forêts aléatoires (Random Forest)

L'objectif de cette étape est de filtrer et nettoyer le résultat de la segmentation Watershed pour supprimer les éventuels artefacts (cellules éclatées) et les faux positifs (voir figure 3.38) en utilisant des attributs de texture, de couleur et

de forme des objets (cellules) segmentés. Ainsi, nous calculons des descripteurs pour chaque composante connexe dans le masque binaire résultant de l'étape précédente (Marker controlled watershed), à savoir :

- Surface (Area) : correspond au nombre total de pixel appartenant à un objet ;
- Facteur de forme :

$$\text{Facteur de forme} = \frac{4 * \pi * \text{Surface}}{\text{Perimetre}^2}$$

- La moyenne d'intensité pour les 3 composantes (Red, Green et Blue) dans la nouvelle image d'intensité :

$$\text{Moyenne(Mean)} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N I_i$$

- La variance seulement pour la composante rouge (R) et bleue (B) dans la nouvelle image d'intensité afin de décrire le degré de similarité dans une région :

$$\text{Variance} = \frac{1}{N - 1} \sum_{i=1}^N | I_i - \mu |^2$$

La figure 3.39 présente les distributions de densité de probabilité (Normal Probability Density Function) calculées sur la base de la moyenne et l'écart type de chaque attribut, nous constatons une différence de distribution entre les régions cellulaires et les artefacts (faux positives). Ces descripteurs sont calculés à la fois pour enlever les artefacts et par la suite les utilisés dans l'étape de reconnaissance et identification des globules blancs (chapitre 4). Nous nous sommes intéressés à l'algorithme d'apprentissage des forêts aléatoires (random forest), nous justifions ce choix par l'efficacité et la simplicité reconnu de cet algorithme [Breiman, 2001]. Dans lequel plusieurs arbres décisionnels se développent en utilisant un sous ensemble d'apprentissage tirés au hasard dans le jeu de données initial, ainsi les arbres se distinguent les uns des autres par les données sur lequel ils sont entraînés. Par conséquent, la classe prédite pour un nouvel objet à partir d'un vecteur caractéristique est celle qui recueille le plus de votes sur l'ensemble des arbres. Comme paramètre d'entrée, dans l'algorithme des forêts aléatoires il

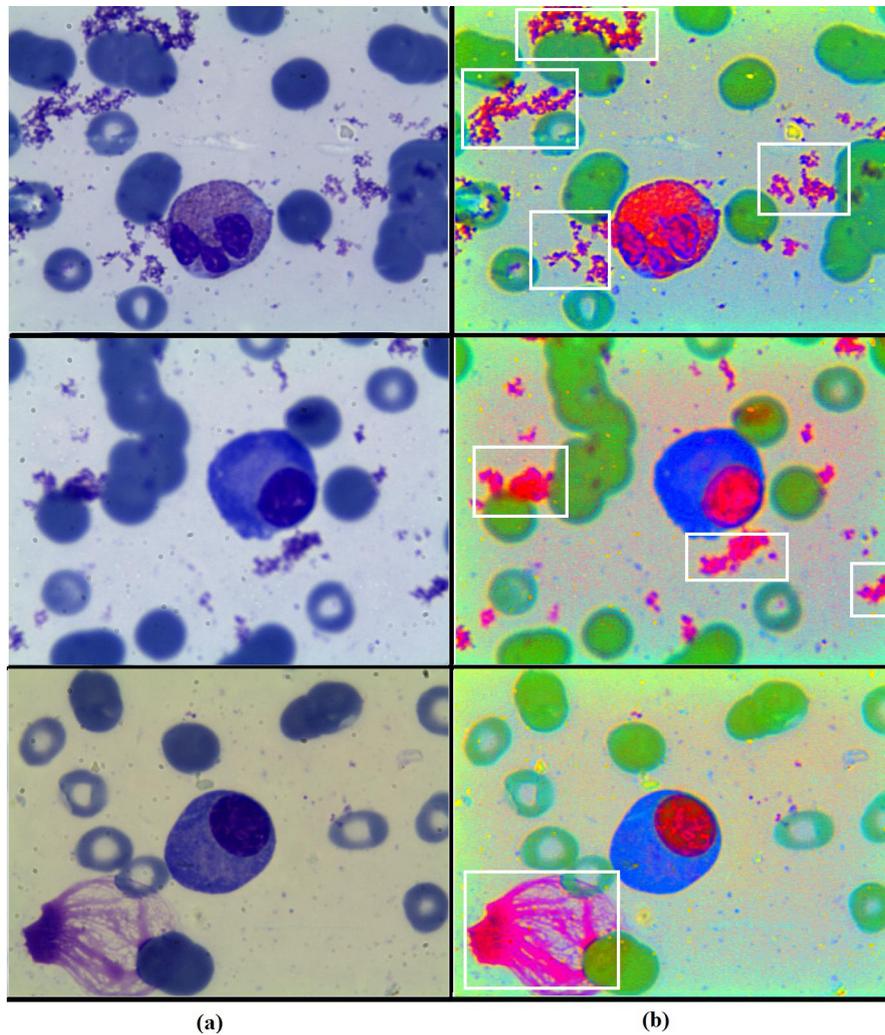


FIGURE 3.38 – Exemple d’images avec artefacts : a) Image originale, b) Image decorrelation stretching

est nécessaire d’introduire le nombre d’arbres formant la forêt, après plusieurs tests, nous avons opté pour la valeur typique de 100 arbres [Breiman, 2001].

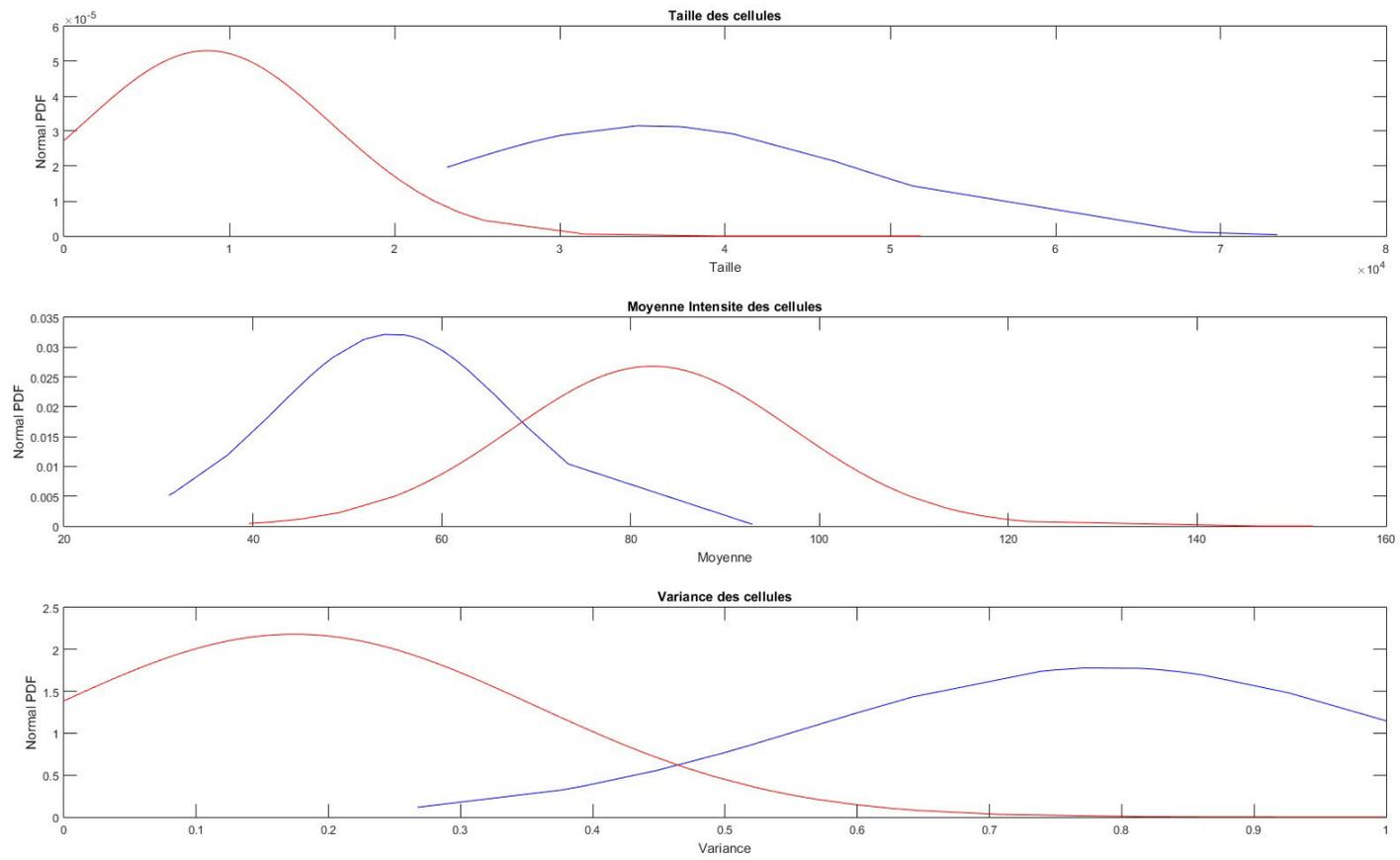


FIGURE 3.39 – Distribution des attributs calculés à partir des régions segmentées ; Courbe Bleue : attributs globules blancs, Courbe Rouge : attributs artefacts

Séparation noyau et cytoplasme

Finalement pour tous les globules blancs segmentés il est nécessaire d'extraire le cytoplasme et le noyau de chacune des cellules présentes permettant ensuite par un processus de caractérisation et de classification pour différencier les différents types cellulaires. Dans un premier temps, nous découpons, à partir de l'image segmentée, des imageries contenant une seule cellule afin de caractériser chaque cellule individuellement. Les globules blancs présentent des formes et des tailles différentes, pour cela nous utilisons le principe du plus petit rectangle (bounding box) contenant chaque composante connexe dans le masque binaire des globules blancs. La figure 3.41 illustre ce processus. Dans les images microscopiques de cytologie sanguine et médullaire, les noyaux sont plus contrastés dans le canal vert (Green) de l'espace couleur RGB [Sabino et al., 2004]. Cependant, un simple seuillage *Otsu* sur cette image d'intensité (canal vert) fournit des résultats imprécis pour la région noyau, car il existe des granules (faux positives) dans la région du cytoplasme et qui sont considérées comme noyau [Putzu and Di Ruberto, 2013] et de plus les régions du noyau sont plus distinguables dans le canal a^* de l'espace de représentation couleur $L * a * b$, la figure 3.40 présente un exemple d'image cytologique avec le canal G et le canal a^* .

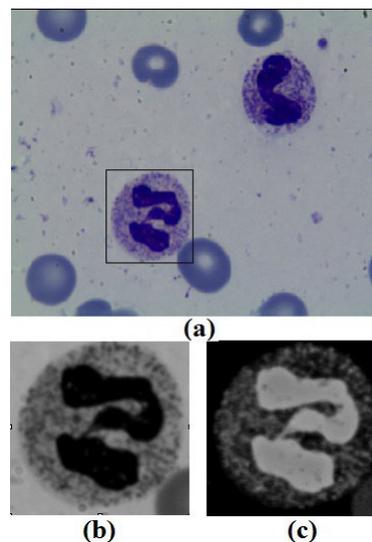


FIGURE 3.40 – Image cytologique RGB : (a) Image initiale, (b) Image canal G d'une cellule, (c) Image canal a^* d'une cellule

Par conséquent, nous utilisons ces propriétés en combinant le résultat du seuillage dans le canal G et le canal a^* . La combinaison de ces deux composantes fournit des régions de noyau plus précises. Finalement, une soustraction est calculée, entre l'imagette de la cellule entière et celle du noyau, afin d'extraire la région cytoplasme (voir Figure 3.41).

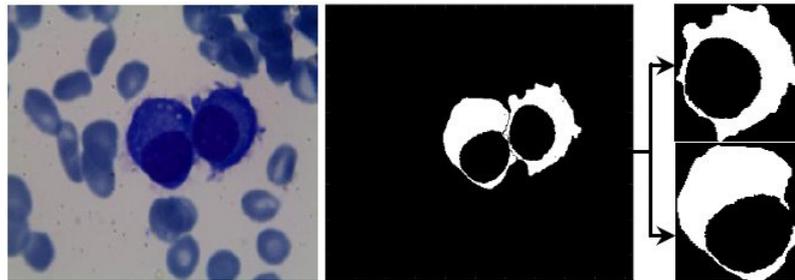


FIGURE 3.41 – Extraction des imagette binaire

3.5.3 Résultats de la segmentation

Après la présentation de notre approche de segmentation, nous allons examiner le fonctionnement de notre système de tri automatique des cellules à travers les résultats de son application sur des images microscopiques de cytologie sanguine et médullaire. Dans cette section, nous évaluons d'abord la segmentation des globules blancs et par la suite nous examinons les résultats de la classification des cellules dans le chapitre suivant.

Nous avons choisi d'appliquer et de valider notre approche proposée sur une base de 87 images microscopiques acquises au service d'hémobiologie du CHU de Tlemcen (voir chapitre 1.4) sur des lames colorées au MGG (May Grunwald Giemsa), nous présentons dans la figure 3.42 quelques images de cette base. Sur ces images, nous trouvons des globules blancs, des globules rouges, des plaquettes ainsi que le fond (plasma). Les globules blancs présentent différentes formes du noyau, différentes couleur et texture du cytoplasme.

L'évaluation d'une segmentation est une étape importante, de ce fait nous utilisons une méthode développée pour une application en microscopie cellulaire (voir section 3.4 du même chapitre) basée sur un appariement des pixels des images

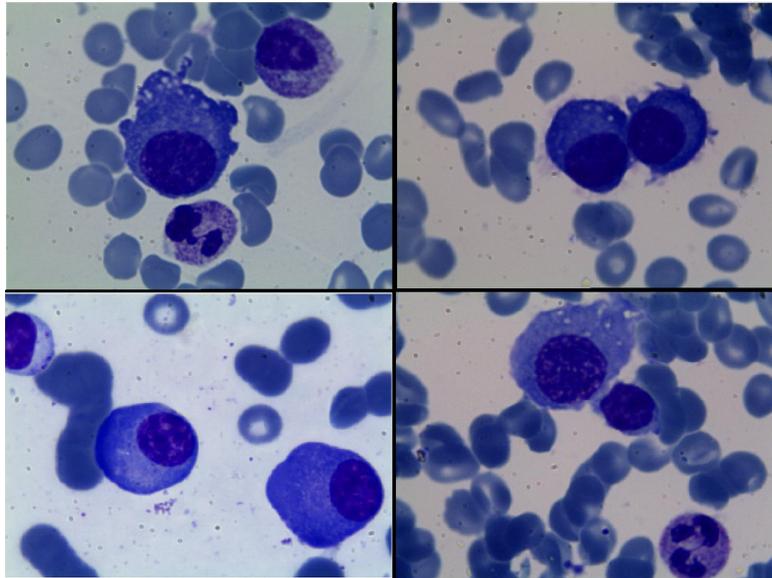


FIGURE 3.42 – Exemple d'images de cytologie

segmentées et vérité terrain. Cette méthode d'évaluation permet de dissocier les résultats de segmentation du noyau par rapport au cytoplasme, de ce fait il est possible d'évaluer la qualité d'une segmentation par rapport à une autre.

Nous présentons une partie des résultats visuels de la segmentation obtenus sur 4 images différentes (voir figure 3.43) ; où la première colonne contient les images initiales, la seconde : les images segmentées où le noyau est coloré en vert et le cytoplasme en jaune pour chaque globule blanc et dans la troisième colonne on trouve les images de vérité terrain (ground truth). Un premier constat s'impose : la totalité des cellules globules blancs ont été segmentées et tous les objets extraits par la méthode proposée sont bien des cellules et non pas des globules rouges ou d'artefacts (débris). En effet, l'étape de filtrage et nettoyage permet d'enlever toutes les cellules éclatées et les faux positives. La figure 3.44 présente un exemple de segmentation d'une image cytologique avec les différentes étapes de l'approche proposée.

Les résultats obtenus sont satisfaisants, le taux de reconnaissance moyen de la segmentation varie entre 95,24% pour les cytoplasmes et 98.81% pour les noyaux ; le tableau 3.3 illustre les rappels et précisions de notre expérience avec une comparaison des performances par rapport à d'autres travaux

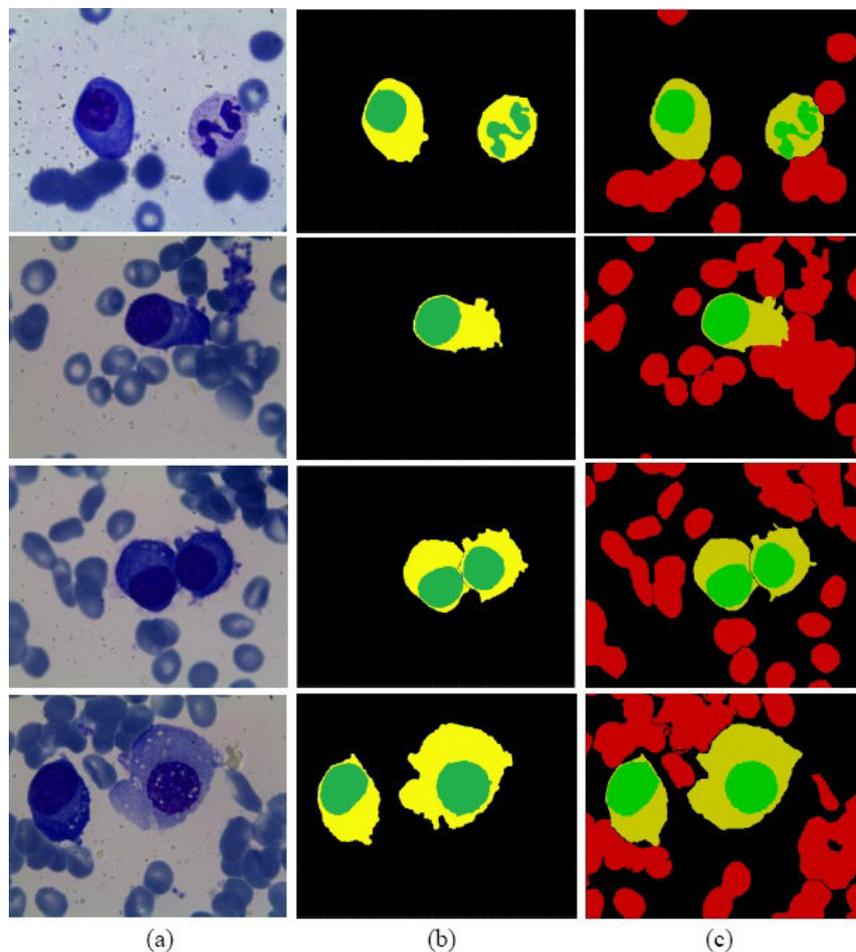


FIGURE 3.43 – Exemple de segmentation : (a) Image originale, (b) Segmentation proposée, (c) Vérité terrain

[Benazzouz et al., 2013, Benazzouz et al., 2016, Benazzouz et al., 2017]. Nous pouvons constater que la méthode proposée, dans le cadre cette thèse, a réalisé de meilleurs résultats que [Benazzouz et al., 2013, Benazzouz et al., 2016, Benazzouz et al., 2017] notamment pour les cytoplasmes. En effet, notre méthode de segmentation extrait les cytoplasmes même si les frontières cellulaires sont irrégulière (voir figure 3.43), il est à noter que le critère de circularité utilisé dans [Benazzouz et al., 2017] afin d'empêcher la déformation lors du processus de croissance, affecte considérablement la précision de la segmentation tout comme pour les erreurs de classification entre les pixels globules rouges, les pixels cyto-

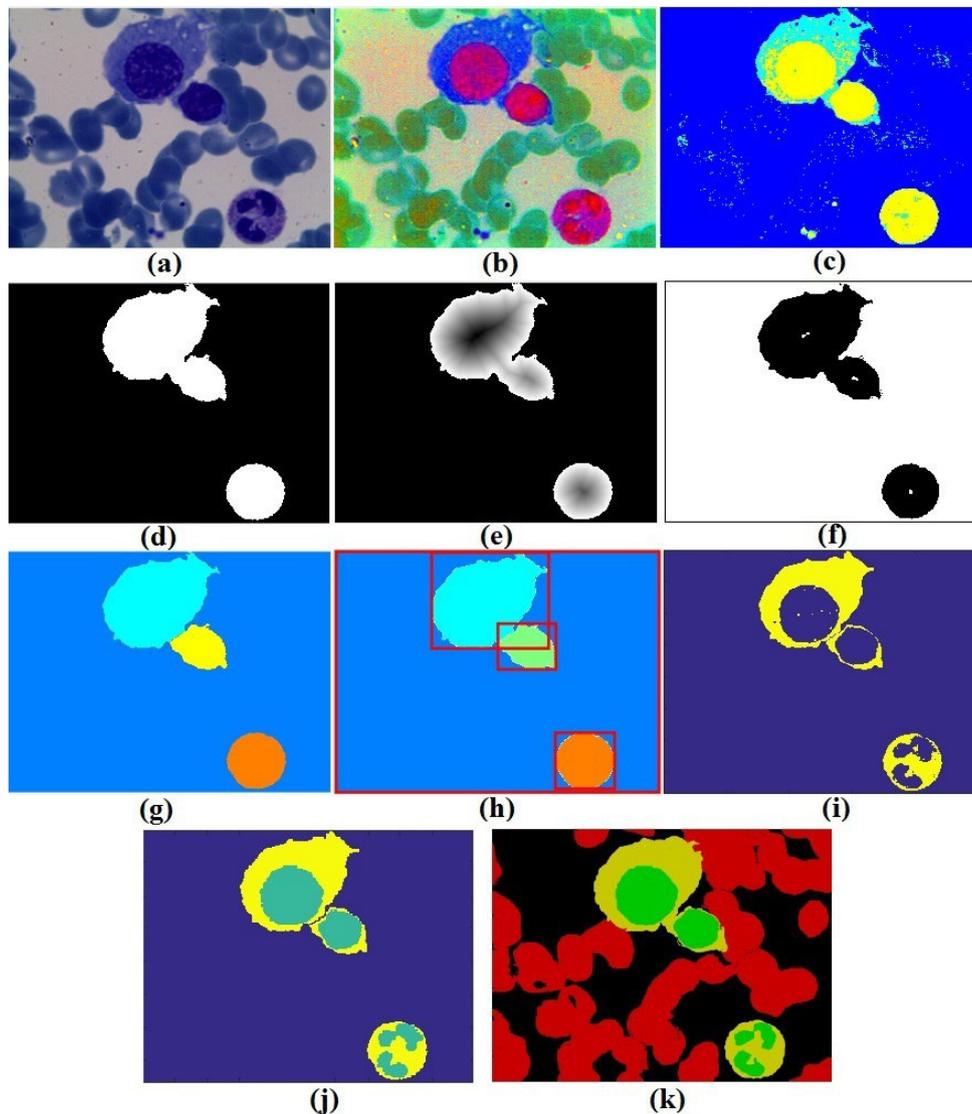


FIGURE 3.44 – Étapes de segmentation : (a) Image originale, (b) Image decorrelation stretching, (c) Résultat de la transformation couleur, (d) Masque binaire après seuillage et amélioration, (e) Carte de distance, (f) Identification des marqueurs, (g) Cellules segmentées après la LPE contrainte par marqueurs et filtrage random forest, (h) Composantes connexes (rectangles rouges), (i) Séparation Noyau/Cytoplasme, (j) Résultat final de segmentation, (k) vérité terrain

plasmes et les pixels du fond dans [Benazzouz et al., 2013] ceci est dû principalement au chevauchement entre ces classes et la présence de zones claires au centre des globules rouges, ce qui a conduit le SVM de détecter ces centres comme fond

	Rate(%)		Accuracy(%)	
	Noyau	Cytoplasme	Noyau	Cytoplasme
Benazzouz et al. [Benazzouz et al., 2013]	94.63	90.25	95.02	84.53
Benazzouz et al. [Benazzouz et al., 2016]	93.53	90.04	96.42	50.77
Benazzouz et al. [Benazzouz et al., 2017]	98.73	94.04	96.67	91.44
Notre approche [Benomar et al., 2018]	98.81	95.24	96.87	92.50

TABLE 3.3 – Comparaison quantitatives des résultats de segmentation

(plasma), de ce fait une étape de poste traitement est essentielle afin de remédier a ce problème.

L'étape de filtrage et nettoyage en combinant des caractéristiques de couleur, de texture et de forme nous a permis d'éliminer les artefacts et les cellules éclatées avant de parvenir même à l'étape de reconnaissance des cellules. Contrairement à [Benazzouz et al., 2013] où ces cellules ont été mal interprétées (voir figure 3.45).

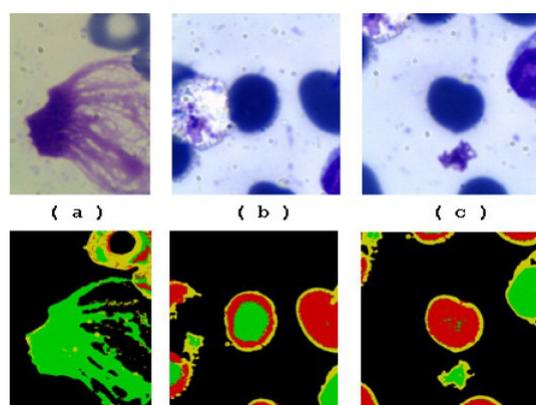


FIGURE 3.45 – Exemple d'images mal interprétées : (a) cellule déchiquetée par l'étalement, (b) cellule mal segmentée, (c) cellule coupée sur le bord de l'image [Benazzouz et al., 2013]

L'approche proposée est bien adapté pour la segmentation et l'extraction des globules blancs dans les images microscopiques présentant des chevauchements et entassements des cellules. Néanmoins, nous avons constaté quelques segmentations inexactes sur des petites parties du noyau et cytoplasme mais cela n'affecte pas la reconnaissance du globule blanc comme cellule entière.

Les résultats les plus concluants ont été enregistrés pour les régions nucléaires,

	Noyau	Cytoplasme	Autre (Globules rouges / Fond)
Noyau	0.9687	0.0313	0.0000
Cytoplasme	0.0431	0.9250	0.0319
Autre (Globules rouges / Fond)	0.0000	0.0025	0.9975

TABLE 3.4 – Matrice de confusion de la segmentation

cependant nous constatons que les résultats de segmentation sont parfois inexacts pour les régions cytoplasmes, ceci est dû principalement à la ressemblance de pixels du cytoplasme aux pixels du fond (plasma) et le chevauchement entre les cellules globules blancs et globules rouges, la matrice de confusion (tableau 3.4) illustre ce conflit [Benomar et al., 2018]. Tout comme pour les cellules non entières situées sur le bord des images microscopiques, affectent considérablement la précision de la segmentation, nous avons éliminé 10 cellules non entières.

3.6 Conclusion

Ce chapitre présente notre approche de segmentation et les résultats de son application sur une base d'images microscopique de cytologie sanguine et médullaire afin d'obtenir les régions des globules blancs (noyaux et cytoplasmes) pour en extraire des descripteurs et caractéristiques, proches des critères visuels humains (expert), pour un tri cellulaires. Ceci a été accompli en se basant sur une première étape de prétraitement des images couleur qui utilise la méthode de decorrelation stretch suivi par une nouvelle transformation couleur qui révèle les caractéristiques colorimétriques des leucocytes.

Par la suite, les globules blancs sont segmentés en utilisant l'algorithme de la ligne de partage des eaux contrainte par marqueurs pour séparer les cellules accolées et un classifieur des forêt aléatoires (random forest) pour raffiner et améliorer les résultats de la segmentation LPE, cette étape est nécessaire afin d'obtenir une segmentation précise et complète des cellules en éliminant les artefacts et les faux positives. Finalement, nous avons crée des imagette contenant une seule cellule

globule blanc afin de séparer le noyau et le cytoplasme de chaque cellule en utilisant un seuillage sur le canal vert de l'espace RVB et le canal a^* de l'espace L^*a^*b . Sur cette imagerie finale segmentée en région cytoplasme et noyau, les descripteurs des régions (couleur, texture et forme) sont calculés et stockés sous forme de vecteur caractéristiques utilisé dans la partie classification et identification des cellules.

L'approche proposée pour la segmentation des globules blancs, dans des images microscopiques de cytologie, nous a donné des résultats très concluants en particulier dans ce type d'image qui contiennent souvent des scènes complexes (chevauchement, entassement des cellules ...), en effet la méthode proposée réalise le traitement d'une image en 2minutes et 51secondes (2minutes pour la segmentation et 51 secondes pour la classification). Des illustrations ont été présentées afin de montrer les performances de cette approche par rapport à d'autres méthodes.

Chapitre 4

Caractérisation et classification des cellules

4.1 Introduction

En hématologie, le comptage différentiel des leucocytes dans les images microscopiques est indispensable afin d'établir un diagnostic médical et comprendre le développement des maladies notamment les cancers du sang, ainsi un système automatique est essentiel pour une identification précise et fiable. Dans un tel système, l'ultime étape est la segmentation de ces cellules à partir des images microscopiques, l'étape suivante est la caractérisation et la classification. Afin d'identifier les six différents types de leucocytes (neutrophile, basophile, éosinophile, monocyte, lymphocyte et plasmocyte) il est nécessaire d'extraire des informations et des attributs de l'image afin de décrire les cellules segmentées. Par définition le résultat d'une segmentation est un ensemble d'objets où chaque objet est décrit par une région (ensemble de pixels connexes). Ainsi la caractérisation des objets segmentés (cellules), consiste à affecter à chaque région une description quantitative constituée d'un certain nombre d'attributs et descripteurs.

4.2 Caractérisation des cellules

Afin de garantir une reconnaissance fiable et exacte des cellules, la caractérisation doit être proche de ce que le médecin décrit. Dans la littérature des travaux dans ce domaine [Putzu and Di Ruberto, 2013, Lezoray, 2000], deux types de descripteurs sont majoritairement utilisés pour décrire les cellules : attributs géométriques et attributs de texture. Ainsi, les descripteurs que nous avons utilisés font partie de ces caractéristiques pertinentes.

4.2.1 Les attributs géométriques

Les attributs géométriques sont les plus couramment utilisés en décrivant la forme et la taille des cellules globules blancs étant donné qu'un expert peut distinguer et décrire rapidement, à l'échelle microscopique, une cellule par les termes grande/petite. Les descripteurs de la taille de la cellule utilisés sont la surface et le périmètre. Tout comme pour les descripteurs de taille les descripteurs de forme sont aussi très importants afin d'avoir une description géométrique des cellules. Les attributs les plus utilisés dans la littérature [Prinyakupt and Pluempitiwiriwawej, 2015, Putzu and Di Ruberto, 2013, Rezatofghi and Soltanian-Zadeh, 2011, Madhloom et al., 2012b], sont présentés dans ce qui suit :

- Surface (Area) : correspond au nombre total de pixel appartenant à un objet ;
- Périmètre : correspond à la somme des distances entre deux pixels successifs appartenant au contour ;
- Rapport de surface (ratio nucléo-cytoplasmique) : correspond au rapport de nombre de pixels du noyau à celui du cytoplasme ;
- Compacité (Compactness) :

$$Compacite = \frac{Surface}{Perimetre^2}$$

- Solidité (Solidity) :

$$Solidite = \frac{Surface}{Surface\ convexe}$$

- Excentricité : correspond au rapport de la longueur des axes majeur et mineur est utilisé pour mesurer le décalage du centre du noyau par rapport au centre de la cellule ;

$$Excentricite = \frac{\text{longueur de l'axe majeur}}{\text{longueur de l'axe mineur}}$$

- Facteur de forme (Formfactor) : paramètre sans dimension qui change avec des irrégularités de la surface ;

$$Facteur\ de\ forme = \frac{4 * \pi * Surface}{Perimetre^2}$$

- Nombre de concavités : calculé en soustrayant l'image binaire du noyau de son enveloppe convexe en considérant que les concavités avec une taille significative (voir figure 4.1). Dans certaines cellules (poly-nuclée) le noyau est composé de plusieurs parties (lobes) reliées avec de très fines liaisons, ce qui permet de différencier certain type de globule blanc.

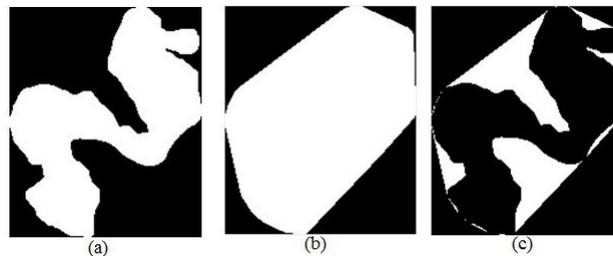


FIGURE 4.1 – (a) Noyau segmenté, (b) Enveloppe Convexe, (c) Concavités

4.2.2 Les attributs de texture

La description de la texture est importante dans l'analyse des images cellulaires et même dans d'autres contextes d'utilisation. Nous avons déjà présenté dans le chapitre 2.4 les différentes familles et attributs pour caractériser la texture d'une image. Les attributs les plus utilisés pour caractériser les cellules sont : la moyenne (mean), la variance, l'entropie, l'énergie, l'homogénéité, la corrélation et le contraste [Putzu and Di Ruberto, 2013, Lezoray, 2000].

4.3 Classification des cellules

Sur la base des caractéristiques et attributs numériques de chaque cellule, il est possible de passer à la troisième étape de notre système : la classification. Il est à noter que nous disposons d'une base d'images étiquetées (vérité terrain), cette base est validée par un expert de domaine (voir figure 4.2) dans le cadre d'une coopération avec le *CHU de Tlemcen*. Ainsi, on dispose pour chaque image la classe et les caractéristiques des cellules, ceci constitue une base d'apprentissage. Par la suite, nous allons construire un classifieur pour identifier les six types de leucocytes. Dans notre travail de thèse nous nous sommes intéressés à l'apprentissage supervisé, en particulier l'algorithme des forêts aléatoire (random forest) [Breiman, 2001]. Différents algorithmes de classification existent dans la littérature et peuvent être utilisés. Baghli et al. [Baghli et al., 2017] comparent les performances de trois algorithmes de classification : l'algorithme des k-plus proches voisins, l'algorithme des Machines à Vecteurs Supports et arbre de décision supervisé. Benazzouz et al. [Benazzouz, 2014] utilisent seulement l'algorithme SVM pour classifier les plasmocytes.

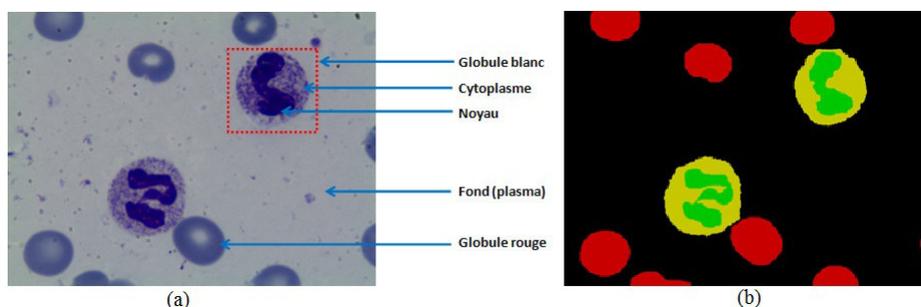


FIGURE 4.2 – Exemple d'image cytologique : (a) Image originale, (b) Vérité terrain

Un classifieur automatique est un algorithme basé sur une fonction X d'un modèle d'apprentissage qui retourne une classe C_i à un vecteur d'attributs $v = \{v_1, \dots, v_n\}$. Trois types d'apprentissage sont envisageables : l'apprentissage supervisé, l'apprentissage non supervisé et l'apprentissage par renforcement. Les réponses fournies par un classifieur peuvent être de type classe, rang ou mesure. Dans tout ce qui suit, on considère la réponse fournie en sortie de classification de

type classe. Ainsi, pour chaque objet caractérisé nous obtenons sa classe d'appartenance parmi les classes disponibles (type cellulaires).

Le processus d'identification des cellules se déroule en deux phases. Une première phase d'apprentissage (Hors ligne) avec l'introduction des caractéristiques des cellules et leurs labels à l'algorithme d'apprentissage afin d'avoir un modèle prédictif. Suivi par une phase de reconnaissance où les attributs d'une cellule segmentée sont introduits au modèle prédictif pour la classification.

4.4 Résultats et discussions

La figure 4.3 illustre l'architecture de notre méthode introduite dans [Benomar et al., 2018] pour l'identification automatique des globules blancs. La dernière phase de reconnaissance des cellules se fait en deux étapes (la caractérisation et la classification).

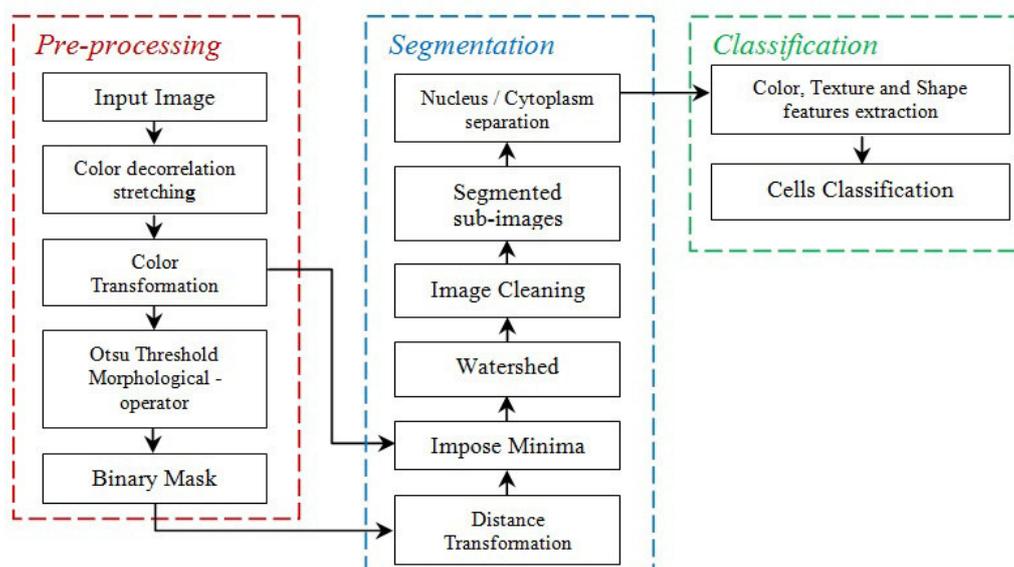


FIGURE 4.3 – Architecture du système proposé pour le tri cellulaire

Dans l'étape de caractérisation nous nous sommes inspirés de la description visuelle et biologique des cellules afin de se rapprocher le plus de la description du médecin. La taille des globules blancs est un critère important utilisé pour

WBC Type	Granulocytes			Agranulocytes	
	Basophil	Eosinophil	Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte
Diamètre (μm)	around 10	10-12	10-12	Small lymphocyte 7-8 Large lymphocyte 12-18	12-20

TABLE 4.1 – Diamètres des différents types de globule blanc

séparer les classes (types) entre elles, la table 4.1 illustre ce principe. En effet, la taille des monocytes et plasmocytes (large lymphocyte) est élevée par rapport aux basophiles, neutrophiles et éosinophiles qui possèdent une taille intermédiaire, la taille la plus faible est celle des small lymphocytes. Le noyau des lymphocytes occupe la majorité de la surface cellulaire par rapport au cytoplasme et de ce fait le rapport (ratio) entre l'aire du noyau et du cytoplasme est élevé pour les lymphocytes par rapport aux autres types (voir figure 4.4).

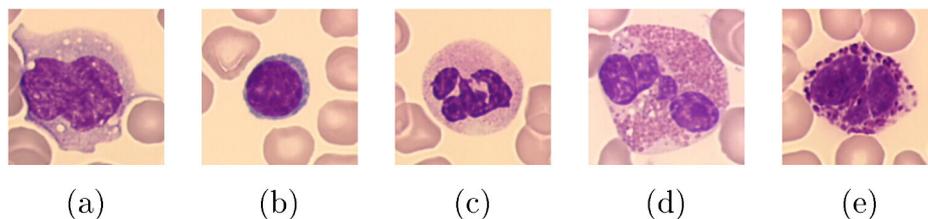


FIGURE 4.4 – Aspect morphologique en microscopie optique des leucocytes : (a) monocyte, (b) lymphocyte, (c) neutrophile, (d) éosinophile, (e) basophile

La forme du noyau différencie clairement les globules blancs. Le noyau des cellules lymphocyte et plasmocyte est circulaire [Putzu and Di Ruberto, 2013] les figures 4.4 et 4.5 illustrent ces caractéristiques. De ce fait, l'attribut facteur de forme est très important, tandis que les neutrophiles ont des valeurs plus faibles. De plus, l'attribut solidité calculé sur la forme entière de la cellule permet de différencier les plasmocytes dystrophiques qui présentent une faible valeur de cet attribut par rapport aux cellules plasmocytes normaux. Une mesure spécifique est utilisée pour calculer le nombre de concavités du noyau. En effet les cellules lymphocytes, plasmocytes et les basophiles comptent un nombre très faible de concavités par rapport aux monocytes et éosinophiles qui ont des valeurs intermédiaires. Cependant, les neutrophiles ont les valeurs les plus élevées.

Outre les caractéristiques morphologiques, les informations couleur et texture

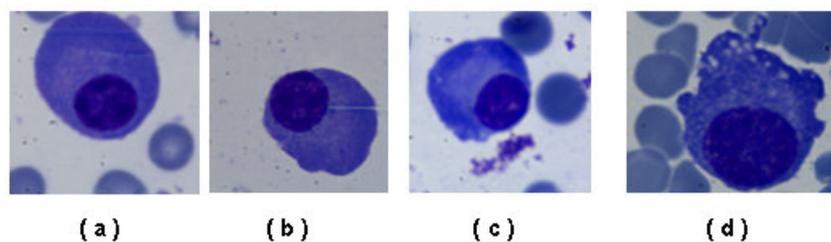


FIGURE 4.5 – Plasmocytes : (a,b,c) normaux, (d) dystrophique

sont utilisées, puisque les granulocytes : neutrophiles, basophiles et éosinophiles contiennent des granules (voir figure 4.4) contrairement aux cellules agranulocytes [Putzu and Di Ruberto, 2013]. Dans cette étape nous avons opté pour des attributs de texture de premier ordre calculés sur les composantes colorimétriques des images microscopiques ainsi que les attributs d'*Haralick* calculés à partir de la matrice de cooccurrence dans différentes directions (0° , 45° , 90° et 135°). Le tableau 4.2 illustre l'ensemble des 20 attributs utilisés et la région d'intérêt correspondante et la figure 4.6 présente des histogrammes de certains attributs extraits afin d'analyser leurs pertinences.

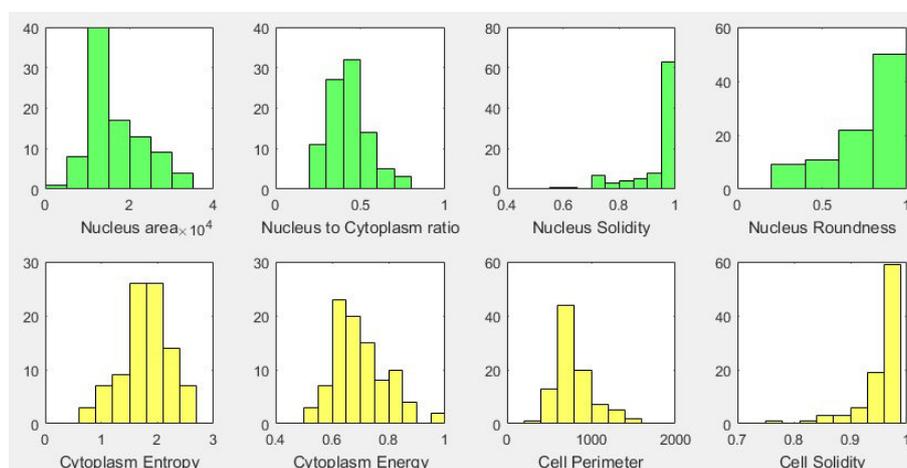


FIGURE 4.6 – Les histogrammes de huit attributs extraits sur un total de vingt attributs

Dans cette phase de classification [Benomar et al., 2018], nous nous sommes intéressés à l'algorithme des forêts aléatoires (Random Forest) proposées par *Breiman* [Breiman, 2001] à la fois pour des problèmes de classification et régression

Région d'intérêt	Attributs Morphologiques	Attributs couleur et texture
Noyau	Surface Ratio nucléo-cytoplasmique Facteur de forme Solidité Excentricité Nombre de composante connexe Nombre de concavité	Énergie Contraste
Cytoplasme		Moyenne d'intensité (canal rouge) Moyenne d'intensité (canal vert) Énergie Homogénéité Entropie Corrélation Contraste
Cellule entière	Surface Périmètre Facteur de forme Solidité	

TABLE 4.2 – Les attributs extraits pour la classification des leucocytes

sur la base d'un apprentissage statistique. Nous avons conçu cette classification dans le but d'identifier six types de leucocytes dans des images médullaires et du sang périphérique. C'est-à-dire que le résultat de la classification d'une imagerie contenant une seule cellule globule blanc, sera comptabilisé comme neutrophile, basophile, éosinophile, monocyte, lymphocyte ou bien plasmocyte (normal / dystrophique). Pour cela, nous avons construits une base d'apprentissage pour le classifieur avec 92 globules blancs et une base de test contenant 53 cellules issus de 87 images microscopiques (chapitre 1.4). Pour l'évaluation, nous avons opté pour les deux métriques suivantes :

- Classe précision :

$$AC_k = 100 \times \frac{T_{kk}}{\sum_{j=1}^M T_{kj}}$$

- Précision globale :

$$AC_{overall} = 100 \times \frac{\sum_{i=1}^M T_{ii}}{\sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^M T_{ij}}$$

Où M est le nombre de classes, T_{ij} est le nombre d'échantillons de classe i qui sont classés comme échantillons de classe j . Il est à noter que $M = 7$ classes (neutrophile, basophile, éosinophile, monocyte, plasmocyte normal, plasmocyte dystrophique).

Comme le montre la matrice de confusion (tableau 4.3), nous obtenons une précision globale de 95,86% et une reconnaissance précise des classes majoritaires (lymphocytes, monocytes, neutrophiles et basophiles). Cependant, nous observons quelques erreurs de classification de l'éosinophile classé en neutrophile ; comme le noyau des éosinophiles et des neutrophiles a une forme similaire [Benomar et al., 2018].

	Plasmocyte		Lymphocyte	Monocyte	Éosinophile	Neutrophile	Basophile	Précisions
	Normal	Dystrophique						
Plasmocyte Normal	46	3	0	0	0	0	0	93.87%
Plasmocyte Dystrophique	1	24	0	0	0	0	0	96.00%
Lymphocyte	0	1	30	0	0	0	0	96.77%
Monocyte	0	0	0	11	0	0	0	100%
Éosinophile	0	0	0	0	5	1	0	83.33%
Neutrophile	0	0	0	0	0	20	0	100%
Basophile	0	0	0	0	0	0	3	100%
Précision Globale								95.86%

TABLE 4.3 – Matrice de confusion, classes précisions et précision globale

Une première amélioration par rapport à la méthode décrite précédemment par *Benazzouz et al.* [Benazzouz et al., 2017], où les auteurs séparent les globules blancs en deux classes : plasmocyte (normal et dystrophique) et non-plasmocyte pour le diagnostic de la maladie du Myélome, réside dans les types de cellules globules blancs que la méthode proposée peut classer et identifier (06 classes).

La précision des plasmocytes obtenue dans [Benazzouz et al., 2017] est de 75,25% en raison de la classification de la plupart des plasmocytes dystrophiques comme d'autres types de cellules (faux négatif). Nous avons observé que les performances sont satisfaisantes pour le système de reconnaissance proposé dans cette thèse avec une précision de 93,87% et 96,00% pour les plasmocytes normaux et dystrophiques respectivement (voir le tableau 4.3).

Notons que cette amélioration par rapport aux résultats de [Benazzouz et al., 2017] est justifiée essentiellement par l'utilisation d'un ensemble de caractéristiques morphologique de la cellule entière (cell body) en plus des caractéristiques de couleur et de texture (voir tableau 4.2), comme l'étape de segmentation est capable de segmenter les frontières des cellules avec précision. Néanmoins, il convient de noter que certaines erreurs de classification entre les plasmocytes normaux et dystrophiques peuvent être attribuées à la forme de cellules similaires sachant que même l'expert humain peine à différencier entre ce genre de cellules.

Au vu de ces performances atteintes, et sachant que la classification prend 0,51 secondes, on peut conclure que les attributs extraits des régions segmentées permettent de séparer et d'identifier assez facilement les plasmocytes normaux et dystrophiques ainsi que la majorité des autres types de cellules (neutrophile, basophile, éosinophile, monocyte et lymphocyte) et surtout éviter les faux négatives. Les résultats obtenus avec le classifieur des forêts aléatoires (random forest) sont ceux attendus étant donné les répartitions des caractéristiques. Ces résultats sont d'un grand intérêt dans le processus de diagnostic médical, vu que le pourcentage de présence de certain type de leucocytes informe sur la présence ou non d'une maladie du sang (cancer du myélome, leucémie...).

4.5 Conclusion

Dans notre système de tri et reconnaissance cellulaire (screening), l'étape de caractérisation est déterminante pour la suite des traitements, ainsi nous avons choisi des attributs significatifs qui additionnent les techniques de caractérisation et les descriptions de l'expert afin de séparer correctement les classes de cellules dans l'étape suivante de classification. Un vecteur de 20 attributs géométriques, couleurs et textures est utilisé comme entrée au classifieur afin de procéder l'apprentissage et la reconnaissance des cellules. L'évaluation des résultats nous a permis de reconnaître l'efficacité de la méthode de classification que nous avons mise en place.

Conclusion générale et perspectives

Dans le domaine de traitement d'images, l'analyse des images médicales est un axe de recherche très actif avec beaucoup de travaux et applications, notamment le développement de nouveaux systèmes automatique d'aide au diagnostic pour assister le praticien du domaine et diminuer le risque d'erreur.

L'objectif des travaux présentés dans cette thèse est de développer un système automatique de tri cellulaire en vue d'une aide à l'analyse visuelle des images microscopiques de cytologie sanguine et médullaire. Ce manuscrit présente les différentes phases de notre approche et décrit notre contribution à la segmentation et la classification des cellules, en admettant qu'il n'existe pas une méthode universelle pour la segmentation mais celle-ci dépend du domaine d'application. La première phase consiste en l'acquisition des images cytologiques couleur par numérisation des images microscopiques à l'aide d'un ordinateur et une caméra numérique, suivi par une étape de prétraitement. La phase cruciale est la segmentation des cellules qui doit être robuste et précise, permettant d'extraire l'information contenue dans l'image. Finalement la phase classification et identification des globules blancs.

Les images cytologiques contiennent souvent des chevauchements et entassements des cellules, de plus la qualité de ces images dépend énormément de la coloration et du microscope utilisé. Pour éviter d'aboutir à des méthodes de segmentation complexes avec des temps de traitement important, un prétraitement des images microscopiques est nécessaire afin d'améliorer ces images. L'originalité de la méthode réside dans l'utilisation d'une nouvelle transformation couleur permettant de révéler les caractéristiques chromatiques des cellules. Cette étape de prétraitement tend à créer une nouvelle image d'intensité afin de simplifier la segmentation des cellules globules blancs.

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à la segmentation d'images microscopiques par combinaison des informations couleur et texture, notre deuxième contribution s'inscrit dans ce contexte. La stratégie envisagée consiste à intégrer successivement l'information couleur et texture dans le processus de segmentation automatique des cellules, où une segmentation est proposée avec l'algorithme de la ligne de partage des eaux contrainte par marqueurs qui utilise une transformation de distance et d'intensité [Arslan et al., 2014], afin de séparer les cellules accolées avec des contours réguliers. Afin d'obtenir une segmentation précise et complète des globules blancs en éliminant les artefacts et les faux positives, un classifieur à base de random forest est utilisé avec des descripteurs de texture, de couleur et de forme. Notre approche de segmentation s'est révélée efficace en atteignant une grande précision de segmentation (96,87% des noyaux et 92.50% des cytoplasmes) notamment dans des scènes complexes où d'autres méthodes ont du mal à extraire les régions d'intérêts, ceci nous a amenés à la dernière phase de notre système qui est l'identification des globules blancs où une nouvelle contribution est proposée pour la reconnaissance de six types de cellules globules blancs (neutrophile, éosinophile, basophile, monocyte, lymphocyte et plasmocyte) en utilisant des descripteurs de couleur, de texture et de forme liées à la description du médecin lors du processus de lecture visuelle afin de reproduire ces analyses et descriptions. Cette classification cellulaire nous a permis une bonne reconnaissance des globules blancs (leucocytes) avec une précision moyenne de 95.86% des différents types cellulaires, 93.87% des plasmocytes normaux et 96% des plasmocytes dystrophiques [Benomar et al., 2018], ce qui performant en terme de temps d'exécution et taux de reconnaissance dans différents travaux sur la même base d'images [Benazzouz et al., 2017, Baghli et al., 2017, Benazzouz et al., 2013, Benazzouz et al., 2016].

Dans le cadre de l'amélioration de notre système, différents points restent à approfondir en ouvrant la voie à des perspectives et des futurs travaux de recherches dans le domaine médicale. Une adaptation de notre méthode de segmentation sur d'autres types d'images médicales ainsi que la méthode de classification des cellules, est nécessaire dans le but de généraliser notre approche à d'autres domaines comme l'histologie en intégrant d'autres informations et éventuellement d'autres techniques de traitement d'image qui peuvent renforcer les performances du sys-

tème et proposer aux praticiens différentes possibilités d'analyse et de diagnostic. De plus, nous envisageons d'améliorer la combinaison de la couleur et de la texture par l'intégration d'autres attributs, notamment les LBP (local binary pattern) avec l'utilisation d'autres espaces couleurs à la fois pour des résultats plus pertinents et invariants aux transformations (rotation, zoom...). En ce qui concerne la base d'images, elle doit être complétée et enrichie par davantage d'images microscopiques pour renforcer l'apprentissage et répartir les proportions des différents types de cellules pour une reconnaissance précise des cellules peu représentées d'une part, d'autre part pour une application Deep Learning. La mise en ligne de notre base d'images est indispensable afin de disposer d'un *benchmark* reconnu.

Références bibliographiques

- [Abràmoff et al., 2004] Abràmoff, M. D., Magalhães, P. J., and Ram, S. J. (2004). Image processing with imagej. *Biophotonics international*, 11(7) :36–42.
- [Arslan et al., 2014] Arslan, S., Ozyurek, E., and Gunduz-Demir, C. (2014). A color and shape based algorithm for segmentation of white blood cells in peripheral blood and bone marrow images. *Cytometry Part A*, 85(6) :480–490.
- [Attia, 2013] Attia, D. (2013). *Segmentation d’images par combinaison adaptative couleur-texture et classification de pixels. : Applications à la caractérisation de l’environnement de réception de signaux GNSS*. PhD thesis, Université de Technologie de Belfort-Montbéliard.
- [Baghli et al., 2017] Baghli, I., Benazzouz, M., and CHIKH, A. (2017). Plasma cell identification based on evidential segmentation and supervised learning. *In press, to appear in International Journal of Biomedical Engineering and Technology*.
- [Baghli et al., 2014] Baghli, I., Nakib, A., Sellam, E., Benazzouz, M., Chikh, A., and Petit, E. (2014). Hybrid framework based on evidence theory for blood cell image segmentation. *Medical Imaging*.
- [Benazzouz, 2014] Benazzouz, M. (2014). *Analyse intelligente des images médicales : application aux images microscopiques de cytologie*. PhD thesis, Tlemcen University.
- [Benazzouz et al., 2016] Benazzouz, M., Baghli, I., Benomar, A., Ammar, M., Benmouna, Y., and Chikh, M. A. (2016). Evidential segmentation scheme of bone marrow images. *Advances in Image and Video Processing*, 4(1) :37.
- [Benazzouz et al., 2017] Benazzouz, M., Baghli, I., Benomar, M. L., and Chikh, M. A. (2017). Automated identification of plasma cell in bone marrow

- images. In *Mathematics and Information Technology (ICMIT), 2017 International Conference on*, pages 8–12. IEEE.
- [Benazzouz et al., 2013] Benazzouz, M., Baghli, I., and Chikh, M. A. (2013). Microscopic image segmentation based on pixel classification and dimensionality reduction. *International Journal of Imaging Systems and Technology*, 23(1) :22–28.
- [Benomar, 2012] Benomar, M. L. (2012). Segmentation d’images microscopiques de cytologie. *Magister Informatique/ Université de Tlemcen*.
- [Benomar et al., 2014] Benomar, M. L., Benazzouz, M., and CHIKH, A. (2014). Segmentation d’images microscopiques basée sur les attributs textures. *ICAIIIT Conférence Internationale sur l’Intelligence Artificielle et les Technologies de l’Information Ouargla/Algeria*.
- [Benomar et al., 2012] Benomar, M. L., Benazzouz, M., CHIKH, A., and Baghli, I. (2012). Fcm spatiale pour la segmentation d’images microscopiques. *BIO-MEIC Biomedical International Conference- Tlemcen/Algeria*.
- [Benomar et al., 2018] Benomar, M. L., Chikh, A., Descombes, X., and Mourtada, B. (2018). Multi features based approach for white blood cells segmentation and classification in peripheral blood and bone marrow images. *In press, to appear in International Journal of Biomedical Engineering and Technology (IJBET)*.
- [Berge, 1973] Berge, C. (1973). Graphes et hypergraphes.
- [Beucher, 1990] Beucher, S. (1990). *Segmentation d’images et morphologie mathématique*. PhD thesis, Ecole Nationale Supérieure des Mines de Paris.
- [Bezdek, 1981] Bezdek, J. C. (1981). Objective function clustering. In *Pattern recognition with fuzzy objective function algorithms*, pages 43–93. Springer.
- [Borsotti et al., 1998] Borsotti, M., Campadelli, P., and Schettini, R. (1998). Quantitative evaluation of color image segmentation results. *Pattern recognition letters*, 19(8) :741–747.
- [Breiman, 2001] Breiman, L. (2001). Random forests. *Machine learning*, 45(1) :5–32.

- [Brox et al., 2010] Brox, T., Rousson, M., Deriche, R., and Weickert, J. (2010). Colour, texture, and motion in level set based segmentation and tracking. *Image and Vision Computing*, 28(3) :376–390.
- [Caselles et al., 1993] Caselles, V., Catté, F., Coll, T., and Dibos, F. (1993). A geometric model for active contours in image processing. *Numerische mathematik*, 66(1) :1–31.
- [Caselles et al., 1997] Caselles, V., Kimmel, R., and Sapiro, G. (1997). Geodesic active contours. *International journal of computer vision*, 22(1) :61–79.
- [Chabrier et al., 2004] Chabrier, S., Rosenberger, C., Laurent, H., Emile, B., and Marché, P. (2004). Evaluating the segmentation result of a gray-level image. In *Signal Processing Conference, 2004 12th European*, pages 953–956. IEEE.
- [Chen and Chen, 2002] Chen, K.-M. and Chen, S.-Y. (2002). Color texture segmentation using feature distributions. *Pattern recognition letters*, 23(7) :755–771.
- [Cocquerez and Philipp-Foliguet, 1995] Cocquerez, J. P. and Philipp-Foliguet, S. (1995). *Analyse d’images : filtrage et segmentation*. Masson.
- [Cohen et al., 1989] Cohen, L., Vinet, L., Sander, P. T., and Gagalowicz, A. (1989). Hierarchical region based stereo matching. In *Computer Vision and Pattern Recognition, 1989. Proceedings CVPR’89., IEEE Computer Society Conference on*, pages 416–421. IEEE.
- [Collins and Evans, 1997] Collins, D. L. and Evans, A. C. (1997). Animal : validation and applications of nonlinear registration-based segmentation. *International journal of pattern recognition and artificial intelligence*, 11(08) :1271–1294.
- [Comaniciu and Meer, 2002] Comaniciu, D. and Meer, P. (2002). Mean shift : A robust approach toward feature space analysis. *IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence*, 24(5) :603–619.
- [Coquin et al., 2002] Coquin, D., Bolon, P., and Ionescu, B. (2002). Dissimilarity measures in color spaces. In *Pattern Recognition, 2002. Proceedings. 16th International Conference on*, volume 1, pages 612–615. IEEE.

- [Cour et al., 2005] Cour, T., Benezit, F., and Shi, J. (2005). Spectral segmentation with multiscale graph decomposition. In *Computer Vision and Pattern Recognition, 2005. CVPR 2005. IEEE Computer Society Conference on*, volume 2, pages 1124–1131. IEEE.
- [Deng and Manjunath, 2001] Deng, Y. and Manjunath, B. (2001). Unsupervised segmentation of color-texture regions in images and video. *IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence*, 23(8) :800–810.
- [Digabel and Lantuéjoul, 1978] Digabel, H. and Lantuéjoul, C. (1978). Iterative algorithms. In *Proc. 2nd European Symp. Quantitative Analysis of Microstructures in Material Science, Biology and Medicine*, volume 19, page 8. Stuttgart, West Germany : Riederer Verlag.
- [Dorini et al., 2013] Dorini, L. B., Minetto, R., and Leite, N. J. (2013). Semiautomatic white blood cell segmentation based on multiscale analysis. *IEEE journal of biomedical and health informatics*, 17(1) :250–256.
- [Dufournaud et al., 2000] Dufournaud, Y., Schmid, C., and Horaud, R. (2000). Appariement d’images à des échelles différentes. In *Reconnaissance des Formes et Intelligence Artificielle (RFIA’00)*, volume 2, pages 327–336.
- [Dunn, 1973] Dunn, J. C. (1973). A fuzzy relative of the isodata process and its use in detecting compact well-separated clusters.
- [Faugeras, 1979] Faugeras, O. (1979). Digital color image processing within the framework of a human visual model. *IEEE Transactions on Acoustics, Speech, and Signal Processing*, 27(4) :380–393.
- [Gillespie et al., 1986] Gillespie, A. R., Kahle, A. B., and Walker, R. E. (1986). Color enhancement of highly correlated images. i. decorrelation and hsi contrast stretches. *Remote Sensing of Environment*, 20(3) :209–235.
- [Hanbury and Marcotegui, 2009] Hanbury, A. and Marcotegui, B. (2009). Morphological segmentation on learned boundaries. *Image and Vision Computing*, 27(4) :480–488.
- [Haralick, 1979] Haralick, R. M. (1979). Statistical and structural approaches to texture. *Proceedings of the IEEE*, 67(5) :786–804.

- [Haralick et al., 1973] Haralick, R. M., Shanmugam, K., et al. (1973). Textural features for image classification. *IEEE Transactions on systems, man, and cybernetics*, (6) :610–621.
- [Hedjam and Mignotte, 2009] Hedjam, R. and Mignotte, M. (2009). A hierarchical graph-based markovian clustering approach for the unsupervised segmentation of textured color images. In *Image Processing (ICIP), 2009 16th IEEE International Conference on*, pages 1365–1368. IEEE.
- [Huang and Hung, 2012] Huang, D.-C. and Hung, K.-D. (2012). Leukocyte nucleus segmentation and recognition in color blood-smear images. In *Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC), 2012 IEEE International*, pages 171–176. IEEE.
- [Hui et al., 2006] Hui, W., Xiao-Hui, W., Yue, Z., and Jie, Y. (2006). Color texture segmentation using quaternion-gabor filters. In *Image Processing, 2006 IEEE International Conference on*, pages 745–748. IEEE.
- [Ilea and Whelan, 2009] Ilea, D. E. and Whelan, P. F. (2009). Colour saliency-based parameter optimisation for adaptive colour segmentation. In *Image Processing (ICIP), 2009 16th IEEE International Conference on*, pages 973–976. IEEE.
- [Ilea and Whelan, 2011] Ilea, D. E. and Whelan, P. F. (2011). Image segmentation based on the integration of colour–texture descriptors—a review. *Pattern Recognition*, 44(10-11) :2479–2501.
- [Kass et al., 1988] Kass, M., Witkin, A., and Terzopoulos, D. (1988). Snakes : Active contour models. *International journal of computer vision*, 1(4) :321–331.
- [Kim and Hong, 2009] Kim, J.-S. and Hong, K.-S. (2009). Color–texture segmentation using unsupervised graph cuts. *Pattern Recognition*, 42(5) :735–750.
- [Koenderink and van Doorn, 1987] Koenderink, J. J. and van Doorn, A. J. (1987). Representation of local geometry in the visual system. *Biological cybernetics*, 55(6) :367–375.

- [Krinidis and Pitas, 2009] Krinidis, M. and Pitas, I. (2009). Color texture segmentation based on the modal energy of deformable surfaces. *IEEE Transactions on Image Processing*, 18(7) :1613–1622.
- [Lecoeur and Barillot, 2007] Lecoeur, J. and Barillot, C. (2007). *Segmentation d'images cérébrales : État de l'art*. PhD thesis, INRIA.
- [Leitner et al., 1991] Leitner, F., Marque, I., Lavallée, S., and Cinquin, P. (1991). Dynamic segmentation : finding the edge with snake splines. In *Curves and surfaces*, pages 279–284. Elsevier.
- [Levine and Nazif, 1985] Levine, M. D. and Nazif, A. M. (1985). Dynamic measurement of computer generated image segmentations. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, (2) :155–164.
- [Lezoray, 2000] Lezoray, O. (2000). *Segmentation d'images par morphologie mathématique et classification de données par réseaux de neurones : Application à la classification de cellules en cytologie des séreuses*. PhD thesis, Université de Caen Basse-Normandie.
- [Liu and Yang, 1994] Liu, J. and Yang, Y.-H. (1994). Multiresolution color image segmentation. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 16(7) :689–700.
- [Madhloom et al., 2010] Madhloom, H., Kareem, S., Ariffin, H., Zaidan, A., Alanazi, H., and Zaidan, B. (2010). An automated white blood cell nucleus localization and segmentation using image arithmetic and automatic threshold. *Journal of Applied Sciences*, 10 :959–966.
- [Madhloom et al., 2012a] Madhloom, H. T., Kareem, S. A., and Ariffin, H. (2012a). An image processing application for the localization and segmentation of lymphoblast cell using peripheral blood images. *Journal of medical systems*, 36(4) :2149–2158.
- [Madhloom et al., 2012b] Madhloom, H. T., Kareem, S. A., and Ariffin, H. (2012b). A robust feature extraction and selection method for the recognition of lymphocytes versus acute lymphoblastic leukemia. In *Advanced Computer Science Applications and Technologies (ACSAT), 2012 International Conference on*, pages 330–335. IEEE.

- [Martin, 2002] Martin, D. R. (2002). An empirical approach to grouping and segmentation.
- [Meurie, 2005] Meurie, C. (2005). *Segmentation d'images couleur par classification pixellaire et hiérarchie de partitions*/par Cyril Meurie. PhD thesis, Caen.
- [Meyer, 1994] Meyer, F. (1994). Topographic distance and watershed lines. *Signal processing*, 38(1) :113–125.
- [Mignotte, 2008] Mignotte, M. (2008). Segmentation by fusion of histogram-based k -means clusters in different color spaces. *IEEE Transactions on image processing*, 17(5) :780–787.
- [Mikolajczyk and Schmid, 2001] Mikolajczyk, K. and Schmid, C. (2001). Indexing based on scale invariant interest points. In *Computer Vision, 2001. ICCV 2001. Proceedings. Eighth IEEE International Conference on*, volume 1, pages 525–531. IEEE.
- [Nammalwar, 2010] Nammalwar, P-Ghita, O.-W. P. (2010). A generic framework for colour texture segmentation. *Sensor Review*, 30 :69–79.
- [Ohta et al., 1980] Ohta, Y.-I., Kanade, T., and Sakai, T. (1980). Color information for region segmentation. *Computer graphics and image processing*, 13(3) :222–241.
- [Ojala et al., 1996] Ojala, T., Pietikäinen, M., and Harwood, D. (1996). A comparative study of texture measures with classification based on featured distributions. *Pattern recognition*, 29(1) :51–59.
- [OLIVIER, 1995] OLIVIER, L. (1995). La réalisation d'une étude sur le tri informatique en cytologie. *Mémoire de DEA, Université de Caen*.
- [Otsu, 1979] Otsu, N. (1979). A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE transactions on systems, man, and cybernetics*, 9(1) :62–66.
- [Porebski, 2009] Porebski, A. (2009). *Sélection d'attributs de texture couleur pour la classification d'images. Application à l'identification de défauts sur les décors verriers imprimés par sérigraphie*. PhD thesis, Université Lille 1.

- [Pratt, 1978] Pratt, W. (1978). Digital image processing. *John Wiley and Sons New-York*.
- [Prinyakupt and Pluempitiwiriya-wej, 2015] Prinyakupt, J. and Pluempitiwiriya-wej, C. (2015). Segmentation of white blood cells and comparison of cell morphology by linear and naïve bayes classifiers. *Biomedical engineering online*, 14(1) :63.
- [Putzu and Di Ruberto, 2013] Putzu, L. and Di Ruberto, C. (2013). White blood cells identification and counting from microscopic blood image. In *Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology*, number 73, page 363. World Academy of Science, Engineering and Technology (WASET).
- [Ramoser et al., 2006] Ramoser, H., Laurain, V., Bischof, H., and Ecker, R. (2006). Leukocyte segmentation and classification in blood-smear images. In *Engineering in Medicine and Biology Society, 2005. IEEE-EMBS 2005. 27th Annual International Conference of the*, pages 3371–3374. IEEE.
- [Rao et al., 2009] Rao, S. R., Mobahi, H., Yang, A. Y., Sastry, S. S., and Ma, Y. (2009). Natural image segmentation with adaptive texture and boundary encoding. In *Asian Conference on Computer Vision*, pages 135–146. Springer.
- [Rezatofighi and Soltanian-Zadeh, 2011] Rezatofighi, S. H. and Soltanian-Zadeh, H. (2011). Automatic recognition of five types of white blood cells in peripheral blood. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 35(4) :333–343.
- [Roerdink and Meijster, 2000] Roerdink, J. B. and Meijster, A. (2000). The watershed transform : Definitions, algorithms and parallelization strategies. *Fundamenta informaticae*, 41(1, 2) :187–228.
- [Ruspini, 1969] Ruspini, E. H. (1969). A new approach to clustering. *Information and control*, 15(1) :22–32.
- [Sabino et al., 2004] Sabino, D. M. U., da Fontoura Costa, L., Rizzatti, E. G., and Zago, M. A. (2004). A texture approach to leukocyte recognition. *Real-Time Imaging*, 10(4) :205–216.
- [Savoji and Burge, 1985] Savoji, M. H. and Burge, R. (1985). On different methods based on the karhunen-loeve expansion and used in image analysis. *Computer Vision, Graphics, and Image Processing*, 29(2) :259–269.

- [Serra, 1982] Serra, J. (1982). *Image analysis and mathematical morphology*, v. 1. Academic press.
- [Serrano and Acha, 2009] Serrano, C. and Acha, B. (2009). Pattern analysis of dermoscopic images based on markov random fields. *Pattern Recognition*, 42(6) :1052–1057.
- [Shi and Malik, 2000] Shi, J. and Malik, J. (2000). Normalized cuts and image segmentation. *IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence*, 22(8) :888–905.
- [Shi and Funt, 2007] Shi, L. and Funt, B. (2007). Quaternion color texture segmentation. *Computer Vision and image understanding*, 107(1-2) :88–96.
- [Sklansky, 1978] Sklansky, J. (1978). Image segmentation and feature extraction. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 8(4) :237–247.
- [Tagliasacchi and Carboni, 1997] Tagliasacchi, D. and Carboni, G. (1997). Cellule sanguines. <http://www.funsci.com>. 1997.
- [Talairach and Szikla, 1967] Talairach, J. and Szikla, G. (1967). Atlas d'anatomie stereotaxique du telencephale masson.
- [Talairach and Tournoux, 1988] Talairach, J. and Tournoux, P. (1988). Co-planar stereotaxic atlas of the human brain. 3-dimensional proportional system : an approach to cerebral imaging.
- [Tamura et al., 1978] Tamura, H., Mori, S., and Yamawaki, T. (1978). Textural features corresponding to visual perception. *IEEE Transactions on Systems, man, and cybernetics*, 8(6) :460–473.
- [Theera-Umpon and Dhompongsa, 2007] Theera-Umpon, N. and Dhompongsa, S. (2007). Morphological granulometric features of nucleus in automatic bone marrow white blood cell classification. *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine*, 11(3) :353–359.
- [Ugarriza et al., 2009] Ugarriza, L. G., Saber, E., Vantaram, S. R., Amuso, V., Shaw, M., and Bhaskar, R. (2009). Automatic image segmentation by dynamic region growth and multiresolution merging. *IEEE transactions on image processing*, 18(10) :2275–2288.

- [Vandenbroucke, 2000] Vandenbroucke, N. (2000). *Segmentation d'images couleur par classification de pixels dans les espaces d'attributs colorimétriques adaptés : application à l'analyse d'image*. PhD thesis, ANRT [diff.].
- [Vapnik and Vapnik, 1998] Vapnik, V. N. and Vapnik, V. (1998). *Statistical learning theory*, volume 1. Wiley New York.
- [Vincent and Soille, 1991] Vincent, L. and Soille, P. (1991). Watersheds in digital spaces : an efficient algorithm based on immersion simulations. *IEEE Transactions on Pattern Analysis & Machine Intelligence*, (6) :583–598.
- [Wilson et al., 1997] Wilson, D. L., Baddeley, A. J., and Owens, R. A. (1997). A new metric for grey-scale image comparison. *International Journal of Computer Vision*, 24(1) :5–17.
- [Yang et al., 2008] Yang, A. Y., Wright, J., Ma, Y., and Sastry, S. S. (2008). Unsupervised segmentation of natural images via lossy data compression. *Computer Vision and Image Understanding*, 110(2) :212–225.
- [Yasnoff et al., 1979] Yasnoff, W., Galbraith, W., and Bacus, J. (1979). Error measures for objective assessment of scene segmentation algorithms. *Analytical and quantitative cytology*, 1(2) :107–121.
- [Zagorchev et al., 2007] Zagorchev, L., Goshtasby, A., and Satter, M. (2007). R-snakes. *Image and Vision Computing*, 25(6) :945–959.

Résumé:

En hématologie, le concept de cytologie numérique permet aux pathologistes d'établir des diagnostics précis notamment en cancérologie (le myélome, les leucémies...), cette spécialité est basée sur l'aspect morphologique des cellules globules blancs (leucocyte) et l'extraction d'un ensemble de mesures quantitatives par une lecture et une analyse visuelle des images microscopiques médullaires et du sang périphérique afin de détecter les cellules anormales. La différenciation leucocytaire est une tâche délicate qui demande énormément de concentration et d'expérience. Pour cela, un système automatique est indispensable, non seulement pour assister le praticien et diminuer le risque d'erreur mais également afin de faciliter la lecture et réduire le temps. L'approche proposée pour automatiser ce processus est divisée en trois principales étapes : le prétraitement, la segmentation et la classification. Les méthodes employées sont basées essentiellement sur la couleur, la texture et les propriétés morphologiques des cellules. Ainsi, une nouvelle transformation couleur pour mettre en évidence les régions d'intérêts est d'abord présentée, suivi par une segmentation de ces régions par l'algorithme de la ligne de partage des eaux contrainte par marqueurs (Marker Controlled Watershed) et le classifieur à apprentissage supervisé des forêts aléatoires (Random Forests) pour différencier les globules blancs des globules rouges groupés et des artéfacts. Le noyau et le cytoplasme sont ensuite séparés. Dans l'étape de classification des cellules, un ensemble d'attributs de couleur, de texture et de forme est extrait des régions du noyau, du cytoplasme et de la cellule entière dans le but d'identifier six types de globules blancs (neutrophile, basophile, éosinophile, monocyte, lymphocyte et plasmocyte), et au finale les performances du classifieur des forêt aléatoires sont comparées et évaluées sur un ensemble d'images microscopiques. Les résultats obtenus révèlent des précisions de reconnaissance élevées à la fois pour la segmentation et pour la classification atteignant les 95%.

Mots clés : cytologie sanguine, globules blancs ; segmentation cellulaire ; classification cellulaire; transformation couleur ; attributs texture ; attributs morphologique ; image du sang périphériques ; images médullaires.

Abstract:

In hematology, the concept of digital cytology allows pathologists to establish accurate diagnoses of several diseases including cancers (myeloma, leukemia ...), this specialty is based on the morphological appearance of white blood cells (leukocyte) and the extraction of a set of quantitative measures by screening and visual analysis of microscopic bone marrow and peripheral blood images to detect abnormal cells. Leukocyte differential count is a delicate task requiring concentration and experience of the expert. For that, computer analysis system is essential in order to assist experts, reduce the risk of error and reduce the time. The proposed approach to locate WBC is divided into three main stages: preprocessing, segmentation and classification. The main concepts of the methods employed are based on the color, texture and morphological properties of the white blood cells. Thus, a new color transformation to highlight the regions of interest is first presented, followed by the segmentation step, where two techniques have been used which are Marker Controlled Watershed algorithm to separate the cells regions and the Random Forests classifier to differentiate white blood cells from grouped red blood cells and artifacts. Then, the nucleus and the cytoplasm are separated. In the classification step, a set of color, texture and shape attributes are extracted from the nucleus, cytoplasm and whole cell regions in order to identify six types of white blood cells (neutrophil, basophil, eosinophil, monocyte, lymphocyte and plasma-cell), finally the performances of a random forest classifier on a set of microscopic images are compared and evaluated. The obtained results reveal high recognition accuracies for both segmentation and classification stage reaching 95%.

Keywords: cytology, white blood cells; cells segmentation; cells classification; color transformation; texture features; morphological features, peripheral blood images; bone marrow images.

ملخص:

في أمراض الدم، مفهوم علم الخلايا الرقمية يسمح للأطباء بوضع تشخيص دقيق بما في ذلك السرطان (الميلوما، سرطان الدم ...)، ويستند هذا التخصص على المظهر المورفولوجي لخلايا الدم البيضاء (الكريات البيضاء) واستخراج مجموعة من المواصفات الكمية من خلال القراءة والتحليل البصري للصور النخاعية المجهرية والدم المحيطي للكشف عن الخلايا غير الطبيعية. التعرف على الكريات البيضاء هو مهمة حساسة تتطلب قدراً كبيراً من التركيز والخبرة. لهذا تطوير نظام أوتوماتيكي ضروري، ليس فقط لمساعدة الممارس والحد من خطر الخطأ ولكن أيضاً لتسهيل القراءة وفي وقت أقل. وينقسم النهج المقترح لأتمتة هذه العملية إلى ثلاث مراحل رئيسية: المعالجة المسبقة والتجزئة والتصنيف. وتستخدم الطرق المستخدمة أساساً على اللون والملمس والخصائص المورفولوجية للخلايا. وهكذا، يقدم طريقة جديدة لتحويل اللون للمناطق ذات الاهتمام لإبرازها أولاً، تليها تقسيم هذه المناطق عن طريق خوارزمية خط تقسيم المياه والمصنف غابات عشوائية للتمييز بين خلايا الدم البيضاء من خلايا الدم الحمراء المجمعة والأخطاء. ثم يتم فصل النواة والسيتوبلازم. في خطوة تصنيف الخلايا، يتم استخراج مجموعة من الصفات اللون والملمس والشكل من المناطق الأساسية، من النواة ومن السيتوبلازم ومن الخلية بأكملها من أجل تحديد ستة أنواع من خلايا الدم البيضاء (العدلة، الخلايا القاعدية، الخلايا اليوزيني، الخلايا أحادية الخلية، الخلايا للمفاوية والبلازما)، وفي النهاية تتم مقارنة وتقييم أداء المصنف الغابات العشوائية على مجموعة من الصور المجهرية. وتكشف النتائج التي تم الحصول عليها عن درجات عالية من التقدير لكل من التجزئة والتصنيف إلى 95%.

كلمات أساسية : علم خلايا الدم؛ خلايا الدم البيضاء؛ تجزئة الخلية؛ تصنيف الخلية؛ تحويل اللون؛ سمات الملمس؛ الصفات المورفولوجية؛ صور الدم المحيطي؛ الصور النخاعية.

Multi features-based approach for white blood cells segmentation and classification in peripheral blood and bone marrow images

**Mohammed Lamine Benomar* and
Amine Chikh**

Computer Science Department,
Genie Biomedical Laboratory,
Abou-Bekr Belkaid University,
Tlemcen, Algeria
Email: amine.benomar@mail.univ-tlemcen.dz
Email: mea_chikh@mail.univ-tlemcen.dz
*Corresponding author

Xavier Descombes

French Institute for Research in Computer
Science and Automation (INRIA),
Laboratoire d'Informatique,
Signaux et Systèmes de Sophia Antipolis (I3S),
Côte d'Azur University,
Nice, France
Email: Xavier.Descombes@inria.fr

Mourtada Benazzouz

Computer Science Department,
Genie Biomedical Laboratory,
Abou-Bekr Belkaid University,
Tlemcen, Algeria
Email: m_benazzouz@mail.univ-tlemcen.dz

Abstract: In this paper, we propose a complete automated framework for white blood cells differential count in peripheral blood and bone marrow images, in order to reduce the analysis time and increase the accuracy of several blood disorders diagnosis. A new colour transformation is first proposed to highlight the white blood cells regions; then, a marker controlled watershed algorithm is used to segment the region of interest. The nucleus and cytoplasm are subsequently separated. In the identification step, a set of colour, texture and morphological features are extracted from both nucleus and cytoplasm regions. Next, the performances of a random forest classifier on a set of microscopic images are compared and evaluated. The obtained results reveal high recognition accuracies for both segmentation and classification stage.

Keywords: white blood cells; WBCs; cells segmentation; cells classification; colour transformation; texture features; morphological features, peripheral blood images; bone marrow images.

Reference to this paper should be made as follows: Benomar, M.L., Chikh, A., Descombes, X. and Benazzouz, M. (xxxx) 'Multi features-based approach for white blood cells segmentation and classification in peripheral blood and bone marrow images', *Int. J. Biomedical Engineering and Technology*, Vol. X, No. Y, pp.xxx-xxx.

Biographical notes: Mohammed Lamine Benomar received his Magister in Science and Technology of Information and Communication at the Tlemcen University, Algeria, in 2012. He is currently a PhD student at the Biomedical Engineering Laboratory at the Tlemcen University, Algeria. His research interests include artificial intelligence, medical image analysis and computer-aided diagnosis.

Amine Chikh is a Professor of Biomedical Engineering and the Head of CREADOM Team at the Tlemcen University. He received his PhD in Electrical Engineering from the University of Tlemcen, Algeria and the INSA of Rennes, France, in 2005. He published over 90 journal and conference papers to date and is involved in a variety of funded research projects related to biomedical engineering. His current research interests include artificial intelligence, big data classification and pattern recognition.

Xavier Descombes is the Research Director at the INRIA since 2008. He is currently the Head of a joint team between INRIA, CNRS and the University of Nice dedicated to biological imagery and a member of the scientific committee of the Labex SIGNALIFE. He is a member of the IEEE (Biomedical Image and Signal Processing) BISP committee, a member of the Strategical Committee of Optitech and an expert for the DRRT. He has been the Principal Investigator of several international projects including the ODESSA Associated Team and two ECONET projects. He is the Associated Editor of the *Digital Signal Processing*. His scientific interests include stochastic modelling (Markov random fields, marked point process), optimisation (RJMCMC, birth and death process). His current projects concern computational biology. He is a co-author of more than 100 publications in international journals or conferences.

Mourtada Benazzouz received his MCA in Computer Science at the Tlemcen University, Algeria. He received his PhD in Computer Vision from the University of Tlemcen, Algeria, in 2014. He is interested in medical image analysis and computer-aided diagnosis.

1 Introduction

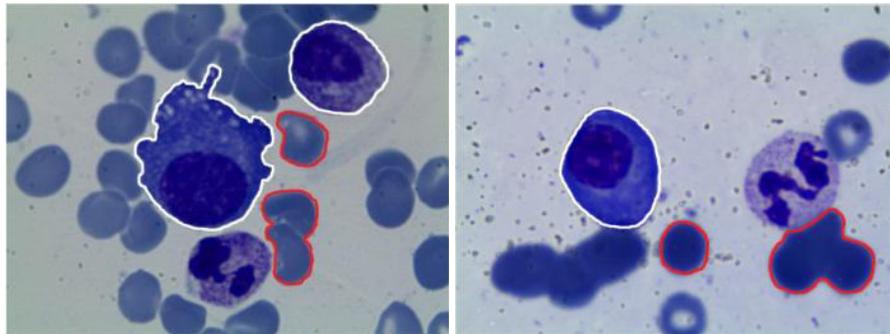
The differential count of white blood cells (WBCs) for medical diagnosis requires a careful observation in peripheral blood and bone marrow microscopic images in order to detect abnormal or suspicious cells. However, this process (screening) is time consuming even for an experiment expert.

The diagnosis relevance of several blood disorders such as leukaemia and myeloma, through the analysis of WBCs or leukocytes, depends on the correct recognition of cells. To achieve this goal, a computer analysis image system is required to automate the

process in order to help experts, to reduce the time of analysis and increase the accuracy. The main steps in such systems are segmentation and classification of WBCs. In this paper, we present a method to identify and classify a set of peripheral blood and bone marrow WBCs that includes basophil, neutrophil, eosophil, monocyte, lymphocyte and plasma cells.

In many researches, cell segmentation is the most challenging step and there are not standard techniques for each domain, but the processing must be adapted to the context. Usually, peripheral blood and bone marrow images consist of WBCs, red blood cells (RBCs), platelets and plasma. Figure 1 shows two images where the most represented cells are RBCs and WBCs. Although WBCs are easily identifiable with their colour, texture and shape characteristics from RBCs and background, the images tend to have complex contents due to the proliferation, maturation and the wide variations in cell shape, dimensions and edges. Therefore, the proposed method to identify WBCs exploits this information to segment the nucleus and cytoplasm regions that will be used to classify the cell type.

Figure 1 Example of peripheral blood and bone marrow images (see online version for colours)



Note: Some WBCs are outlined with white contour and RBCs with red.

The remaining of this paper is organised as follows. In Section 2, we present different methods to identify the WBCs. Next, in Section 3, we detail each step of the proposed method. In Section 4, we describe the implementation and we discuss results. Finally, in Section 5, we conclude the paper and present some possible future works.

2 Related works

In the literature, there exist various methods for segmenting WBCs in order to facilitate the classification in peripheral blood and bone marrow images. To this end, there are mainly two approaches. In the first approach, the WBCs nucleus are identified and then, adequate features are extracted to classify cells. Theera-Umpon and Dhompongsa (2007) propose a differential WBCs count framework in bone marrow images and show that nucleus alone can be used to classify cells, since its segmentation is much easier than the entire cell. They extracted morphological granulometries nucleus features, followed by WBCs classification using Bayes classifiers and artificial neural networks. Leukocyte cell nucleus enhancer using RGB and HSV property to segment nucleus region is

proposed in Huang and Hung (2012). In the recognition steps, they reduced 85 textural and shape features by PCA and classified cells using a genetic algorithm. Madhloom et al. (2010) work focus on five types of WBCs nucleus segmentation using a combination of contrast stretching and image arithmetic operation.

In the second approach, the idea is to segment the entire WBCs individually and then to separate nucleus from cytoplasm in the second step. Recently, Arslan et al. (2014) have implemented WBCs segmentation in peripheral blood and bone marrow images based on colour and shape transformation. They transformed the RGB image into a new intensity map based on its green and blue bands to make the pixels of WBCs more distinguishable. Then, they calculated a distance transform on a binary mask of this new intensity map. They implemented a two-stage segmentation algorithm. First, the cell regions are separated from background using Otsu threshold method. The second stage, based on active contour, is to refine the WBCs boundaries regions and remove false positives. Finally, they combined the new intensity and distance maps in a marker-controlled watershed algorithm to delineate cell boundaries. Indeed, it was found that the proposed algorithm improve the WBCs segmentation performance. Putzu and Di Ruberto (2013) use colour transformation (RGB to CMYK) as WBCs are more contrasted in the Y component, followed by a redistribution of image grey levels by contrast stretching or histogram equalisation in order to simplify the process. The segmentation is realised using the triangle threshold method and arithmetic operations to remove the background, followed by a modified watershed to separate grouped WBCs from which are extracted various features for the classification phase. A system to locate WBCs in microscopic blood smear is proposed in Prinyakupt and Pluempitiwiriyaewej (2015). The concept of the segmentation is based on morphological properties of the real cells. Therefore, the nucleus and cytoplasm were segmented separately after colour transformation, thresholding and ellipse curve fitting to overcome the shapes and sizes variability of WBCs. They extracted 15 features from the segmented nucleus and cytoplasm regions to classify five types of leukocytes using linear and naïve Bayes classifiers. Chu et al. (2015) introduce a method inspired by cosegmentation to delineate the entire WBCs contour. Colour transformation and thresholding are employed to obtain a reference subimage. Then, to cosegment the reference image and the other subimages a similarity measurement is used. Madhloom et al. (2012) integrate colour features with morphological operations to localise WBCs in peripheral blood images and extract each individual cell separately in a subimage. In a continuation of their experiments, Madhloom et al. (2013) develop a computerised recognition system of normal and abnormal lymphocytes cells based on shape and texture features extraction, selection and cell classification. Rezatofghi and Soltanian-Zadeh (2011) propose a system to classify five major groups of WBCs (eosinophil, basophil, monocyte, lymphocyte and neutrophil). Nucleus and cytoplasm were segmented using Gram-Schmidt orthogonalisation and a snake algorithm after the pre-processing procedures. Three kinds of features (colour, morphological and textural) are elicited and selected. Finally, they compared the results of two classifiers (ANN and SVM). A texture approach to WBCs recognition was presented by Sabino et al. (2004). Ramoser et al. (2005) employ colour transformation and K-means clustering for WBCs segmentation. A set of colour and shape features is performed with a polynomial support vector classifier to discriminate between different cell types.

In previous work, we have identified plasma cell in bone marrow images algorithm in two phases. Firstly, nucleus extraction is performed by Otsu thresholding from green

channel, then a region growing with circularity criterion delimitates the cytoplasm. Features extraction and cells classification is presented in Benazzouz et al. (2015). Segmentation scheme using pixel classification based on the fusion of information and evidential algorithm to segment blood cell images is reported in Benazzouz et al. (2013, 2016) and Baghli et al. (2014).

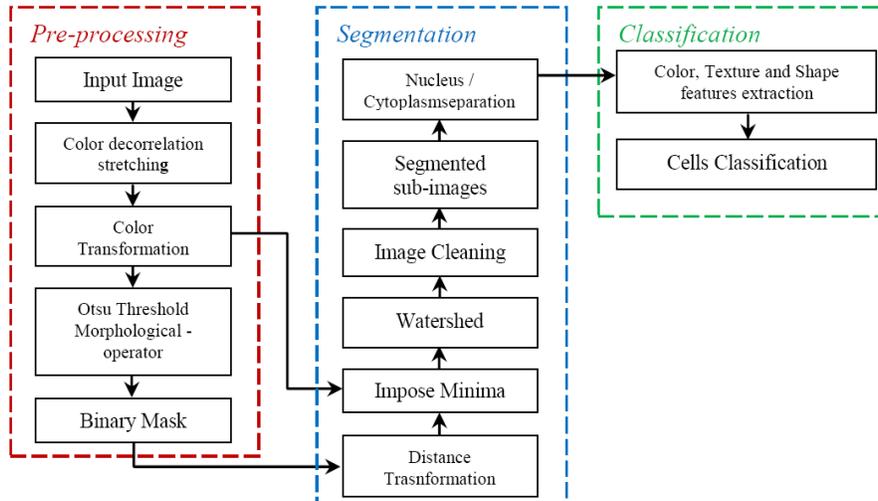
The previous studies based on segmentation of nucleus regions alone are limited when considering the identification of cells types, since the cytoplasm is essential for the classification of several WBCs kinds. Moreover, the published methods show that the cells segmentation and features extraction are the most important steps. In this paper, we present the different steps of a differential WBCs counting system based on a new colour transformation, texture and shape properties leading to faster and more accurate results.

3 Proposed methods

In this paper, we propose to locate the entire WBCs in peripheral blood and bone marrow microscopic smear in three main steps: pre-processing, segmentation and classification as shown on Figure 2. The main properties used by the WBCs segmentation and classification algorithm are colour, texture and morphology. The first step reveals chromatic characteristics of the WBCs by applying decorrelation stretch to multichannel RGB image. Then, a simple colour transformation and Otsu thresholding suppresses background and most of the RBCs. In the segmentation step, two techniques have been used which are marker controlled watershed based on the colour transformation and distance maps, to separate grouped WBCs, followed by an image cleaning step to differentiate between WBCs, false positives and artefacts using shape, colour and texture features. Then the nucleus and cytoplasm separation is based on both green and a^* bands of the RGB and L^*a^*b colour system. The result consists of a binary subimage showing the individual WBCs. Finally, WBCs are classified into categories; this phase is based on features extraction followed by a classifier.

3.1 Pre-processing

Since peripheral blood and bone marrow images captured at the microscope are all in RGB colour space (Figure 1), it becomes necessary to exploit these characteristics consistently to several works which conclude that reducing images into greyscale yields poor segmentation results (Arslan et al., 2014; Benazzouz et al., 2013; Putzu and Di Ruberto, 2013). However, the microscopic images suffer from uneven lighting and staining during acquisition process. Moreover, WBCs can present some complications due to the variations in cell contrast, texture and morphology. Therefore, a pre-processing step is necessary in order to derive a robust and consistent segmentation for a large image dataset. The pre-processing is twofold.

Figure 2 Block diagram of the proposed cells identification system (see online version for colours)

3.1.1 Colour decorrelation stretching

The nucleus regions are more contrasted than other components as shown in Figure 1. Moreover, the nucleus regions have lower value in the green channel compared with other regions and often the cytoplasm colour is indistinguishable from adjacent RBCs. Therefore, decorrelation stretching is necessary in order to enhance the colour differences in peripheral blood and bone marrow images by mapping the original colour values to a new set of colour with a wider range. In Figure 3(a), we can see that the colour points are highly correlated and concentrated. Decorrelation stretching method was introduced by Soha and Schwartz (1978) based on a principal component (PC) transformation of the acquired image (Gonzales and Wintz, 1977). This method is accomplished in four steps (Gillespie et al., 1986):

- extract the PCs of the image
- rotate and translate along the axes of the PCs
- apply contrast stretching separately.
- calculate the inverse transformation.

The results of applying decorrelation stretching on RGB image are shown on Figure 3(b). The pixels of WBCs are more distinguishable and the WBCs can be easily segmented from the images.

3.1.2 Colour transformation

After decorrelation stretching, as shown in Figure 3(b), the RBCs regions have a greater value in the green channel than nucleus and cytoplasm regions. Moreover, the red and blue bands show the WBCs regions as the brightest objects in the image (Figure 4).

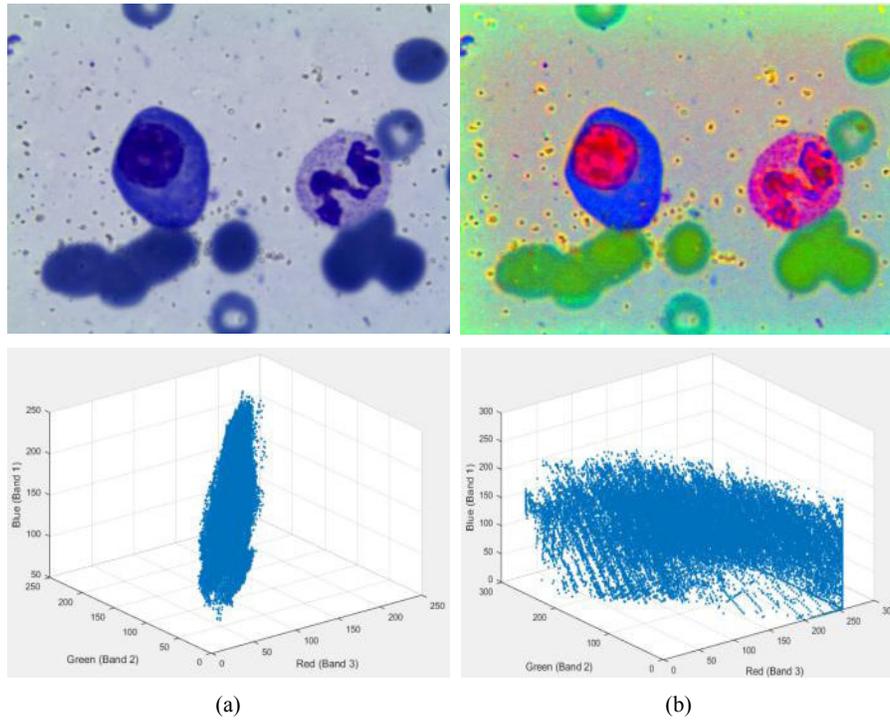
Therefore, we propose to enhance the WBC regions in the image by adding the pixel values in the red and blue bands and then subtract the green band value. Let I be the decorrelation stretch image. The I_R , I_G and I_B denote the red, green and blue bands, respectively, in RGB colour space of the latter image. The enhanced I_E can be denoted for every pixel (x, y) as:

$$I_E(x, y) = \begin{cases} T(x, y), & T(x, y) > 0 \\ 0, & \text{otherwise} \end{cases} \quad (1)$$

where

$$T(x, y) = (I_R(x, y) + I_B(x, y)) - I_G(x, y)$$

Figure 3 Distribution of RGB pixel values (a) before and (b) after decorrelation stretch (see online version for colours)



Notes: a Original.
b Decorrelation stretching.

Figure 5(a) show the new intensity map via the transformation (I_E). Here, the entire WBCs are brighter than the RBCs and background, which simplifies the segmentation of WBCs from the image. We use Otsu (1979) threshold method to obtain the binary mask containing WBCs regions as shown in Figure 5(b). To refine the cell boundaries and remove the small artefacts in the background, we apply morphological operators (dilatation, erosion) as it can be seen in Figure 5(c). Nevertheless, the mask obtained may

contain some false positives cells (that are not WBCs) or damaged RBCs as shown in Figure 6. These false positives are filtered using colour, shape and texture features in the next segmentation step.

Figure 4 Result of decorrelation stretching, (a) red band (b) green band (c) blue band

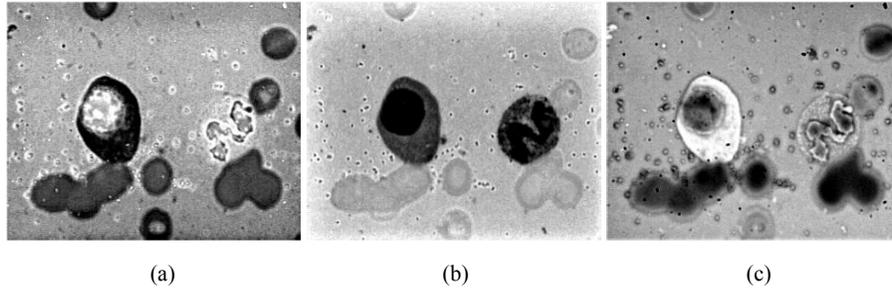


Figure 5 Colour transformation, (a) new intensity map (b) thresholding process (c) refined binary mask (see online version for colours)

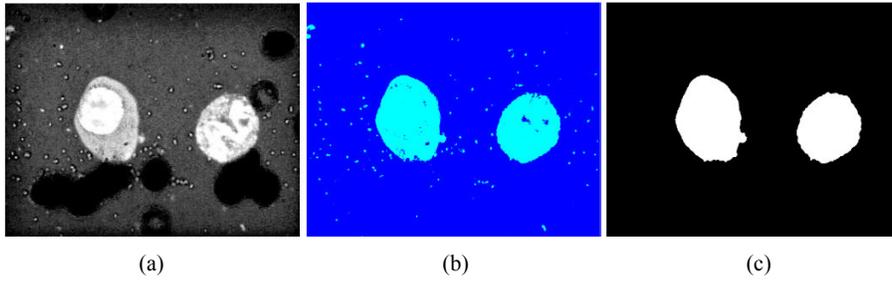
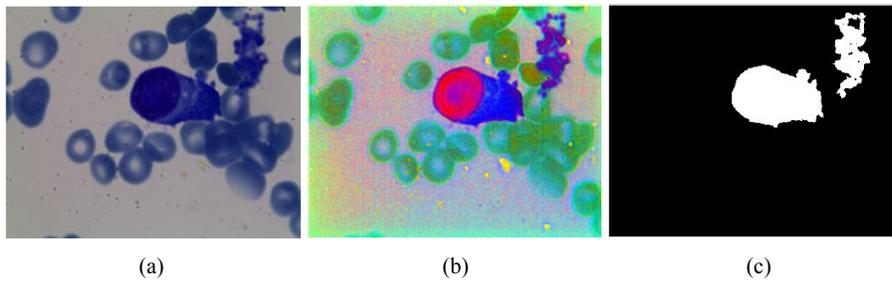


Figure 6 Example of misfiled image, (a) input image (b) decorrelation stretching (c) refined binary mask (see online version for colours)



3.2 Segmentation

The input image in the segmentation step is the binary mask. It can contain single or connected WBCs. To separate adjacent cells the segmentation process is divided into two parts. In the first part, we consider the marker controlled watershed algorithm

(Lindblad, 2002) which uses the distance and the new intensity (I_E) maps to delineate cells boundaries (Arslan et al., 2014). Then, image cleaning is applied to remove all the false positives cells by using the colour, shape and texture features of the WBCs.

3.2.1 Marker controlled watershed

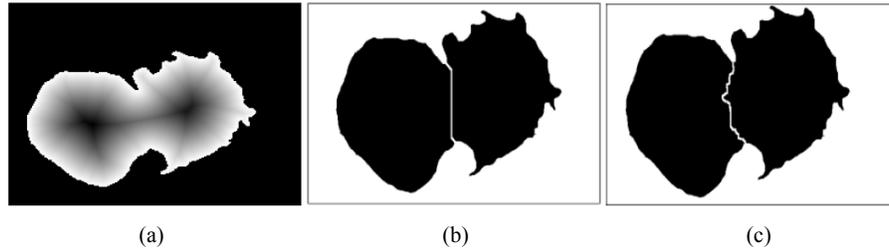
Watershed segmentation is a mathematical method based on the theory of topology for morphological segmentation (Beucher, 1982). The main drawback of this method is the over segmentation, to improve the performance of watershed segmentation, marker-controlled watershed transformations have been proposed by combining the shape and intensity maps (Arslan et al., 2014).

Firstly, we transform the binary mask into a distance map by inner distance transformation using the Euclidean metric from every region pixel to the border and then we identify the markers from which flooding starts by applying H-minima transform as shown in Figure 7(a). At this stage, applying marker-controlled watershed, provide us inaccurate separation between adjacent WBCs [Figure 7(b)]. For this reason, it is necessary to refine the contours extracted. Therefore, we define a new marking function that combines the colour and shape characteristics of WBCs (Arslan et al., 2014). Let D be the distance transform and I_E be the new intensity map. We define the marking function F for every pixel (x, y) as follows:

$$F(x, y) = D(x, y) \cdot I_E(x, y) \quad (2)$$

By exploiting this new marking function in watershed flooding process, we obtain more natural contour of WBCs, as we can see in Figure 7(c).

Figure 7 (a) Distance map, (b) watershed results with the original distance map and (c) the new marking function



3.2.2 Image cleaning

The extracted WBCs mask by marker-controlled watershed step contains all the WBCs and sometimes other abnormal components or RBCs that show similar colour characteristics with WBCs (see Figure 6). Therefore, image cleaning is an important stage to remove false positives cells and avoid errors in the classification process. To achieve this goal, we consider texture and shape properties of the segmented WBCs. Thus, we calculate descriptors for each connected component in the cells binary mask, which are:

- Area: the actual number of pixels in the connected region.

- Roundness:

$$Roundness = \frac{4\pi * Area}{Perimeter^2} \quad (3)$$

- Mean intensity: of the three bands (red, green, blue) in the decorrelated stretch image.

$$Mean = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N I_i \quad (4)$$

- Variance: here, we use the red and blue bands of the decorrelated stretch image to describe intensities similarity within the region. If we denote μ the mean of intensity I_i and N the pixel number of each connected component, we have:

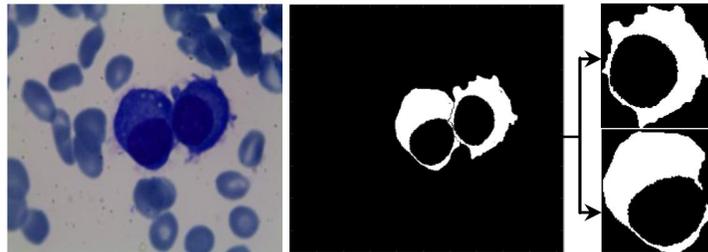
$$Variance = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N |I_i - \mu|^2 \quad (5)$$

The latter descriptors are computed for two objectives: as a factor to remove the noise and to take as features in the cell recognition (classification) step. To eliminate the abnormal components, we employ random forest classification algorithm (Breiman, 2001), in which several classification trees grow using a training set. Therefore, to classify a new object from an input vector, each tree gives a classification and the tree votes for that class. The forest chooses the classification having the greatest number of votes over all the trees in the forest (Berkley Statistics, https://www.stat.berkeley.edu/~breiman/RandomForests/cc_home.htm). Thus, the WBCs can be extracted and the noise objects are eliminated.

3.2.3 Nucleus and cytoplasm separation

The goal of this stage is to divide the WBC to its basic components which are nucleus and cytoplasm. Before that, we cut out subimages containing only single WBC from the cleaned image (Figure 8) in order to avoid problems due to signal heterogeneity among different cells. However, the WBCs can have different shape and size. Therefore, we use the bounding box size which is the smallest rectangle containing each connected component in the WBCs binary mask, the result is a binary subimage which delimitate the entire cell as shown in Figure 8.

Figure 8 Binary subimages extraction (see online version for colours)



In peripheral blood and bone marrow images, the nucleus regions are more contrasted in the green channel of the RGB colour space (Cseke, 1992; Sabino et al., 2004). However, a simple Otsu threshold in this colour band provide inaccurate nucleus regions, since there are granules in the cytoplasm region selected erroneously as part of the nucleus (Putzu and Di Ruberto, 2013). Moreover, the nucleus regions are more distinguishable in the a^* channel of the L^*a^*b colour system. Thus, we make use of these properties by combining the binary image of both green and a^* bands threshold. Combining these two colour bands, yield more accurate nucleus regions. Once the nucleus binary subimage have been created, to obtain the cytoplasm regions, we perform a subtraction between the entire cell and nucleus binary subimages.

3.3 Classification

In practice, the expert uses visual WBCs characteristics (nucleus and cytoplasm shape, texture and colour) to count the cells in the human blood or bone marrow smear and at the same time, identify the cells type. However, data extraction from WBCs can present some complications due to wide variations in cells morphologies, dimensions and boundaries. We automatically quantify these properties in order to provide a complete framework to support the medical activity, able to classify the major types of WBCs in bone marrow and peripheral blood images. These groups are basophil, neutrophil, eosinophil, monocyte, lymphocyte and plasma cell (derived from a type of lymphocyte) which include normal and dystrophic cells (LaFleur-Brooks, 2008; Sun, 2009) as shown in Table 1. To this end, morphological, colour and texture features are computed from the segmented nucleus and cytoplasm regions and used in a random forest classification (Breiman, 2001) to identify the cells types.

Table 1 WBCs types and diameters

WBC type	Granulocytes			Agranulocytes	
	Basophil	Eosinophil	Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte
Diameter (μm)	around 10	10–12	10–12	Small lymphocyte 7–8 Large lymphocyte 12–18	12–20

3.3.1 Morphological features

To obtain a robust classification, we extract morphological features based on the biological aspects of WBC subtype. These features include nucleus and the whole cell area and perimeter, since the monocyte and plasma cell size is high compared with basophil, neutrophil and eosinophil which have intermediate size, whereas, the lymphocyte size is very low (see Table 1). We use the ratio between nucleus and cytoplasm areas to determinate the spread between the two regions, this ratio is very high for lymphocyte and allows to differentiate it from the other WBCs kinds since the nucleus occupies the major cell area. In addition, roundness [see equation (1)], solidity and extent of nucleus and cell body are given by:

$$\text{Solidity} = \frac{\text{Area}}{\text{Convex hull}} \quad (6)$$

$$Extent = \frac{Area}{Bonding\ box\ area} \quad (7)$$

The nucleus shape differentiates clearly the WBCs. The lymphocyte and plasma cell nucleus shape are closer to a circle (Putzu and Di Ruberto, 2013). Thus, they have higher values of nucleus roundness and extent, whereas, neutrophil have lower values. Moreover, solidity differentiates WBCs with irregular nucleus and body cell shape. Therefore, dystrophic plasma cells have lower cell solidity value than normal plasma cell. To these features are added two specific measures, the number of nucleus concavities and nucleus connected components. Hence, if there are multiple nucleus regions in the same cell the respective features are averaged. The number of concavities is found by subtracting the nucleus image from its convex hull; however, we consider only the concavities with a significant size and remove the small concavities. In lymphocyte, plasma cell and basophil the number of concavities is low when compared with monocyte and eosinophil, which have intermediate values, however, neutrophil have the highest values.

Table 2 Features extracted for cells classification

<i>Region of interest</i>	<i>Morphological features</i>	<i>Colour and texture features</i>
Nucleus	Area	Energy
	Nucleus to cytoplasm ratio	Contrast
	Roundness	
	Solidity	
	Extents	
	Number of connected components	
	Number of concavities	
Cytoplasm		Mean intensity in red channel
		Mean intensity in green channel
		Energy
		Homogeneity
		Entropy
		Correlation
Whole cell		Contrast
	Area	
	Perimeter	
	Roundness	
	Solidity	

3.3.2 *Colour and texture features*

In addition to the morphological features, we also take into account colour and texture information, since neutrophil, basophil and eosinophil contain granules, called granulocytes (see Table 1) and the other cells are smooth called agranulocytes (Putzu and Di Ruberto, 2013). Moreover, the difference in smear colour values is used to distinguish between normal and dystrophic plasma cells. In this paper, we used mean intensity in

each of the red and green band of the segmented regions. While textural features were computed from the co-occurrence matrix (energy, homogeneity, entropy, correlation and contrast) (Haralick et al., 1973). We computed the average of each features at four angles (0° , 45° , 90° and 135°) to make features rotation invariant. Table 2 illustrate the total employed features and the corresponding region of interest.

4 Results

The proposed method was tested on a set of 87 colour images containing 155 WBCs, obtained from marrow and peripheral blood smears dyed by May-Grunwald Giemsa (MGG) staining method. The images were taken on a Leica microscope with $100\times$ magnification achromatic lens and recorded by a digital camera with a $1,024 \times 768$ pixels resolution. The WBCs have been classified by an expert to evaluate the segmentation and identification results, thus, each microscopic image has an associated ground truth image where nucleus, cytoplasm, background and RBCs regions are clearly separated and coloured with green, yellow, black and red respectively [see Figure 9(c)].

4.1 Segmentation results

To evaluate our proposed method, we use both visual and quantitative measurements. Figure 9 shows samples segmentation results. First column denotes the input images, the second are the segmented images results where nucleus and cytoplasm are coloured with green and yellow for each WBCs and the third are ground truth images. The performances of the proposed method are excellent in most cases, since the background and the RBCs surrounding the WBCs are completely removed from the image in the pre-processing stage, in fact, the adjacency between cells increases the difficulty in many previous researches. Moreover, the damaged cells and the false positive objects are cleaned from the binary mask before the identification stage. Note that errors in the cells segmentation may affect the efficiency of the classification and identification process. In the same way, the non-entire cells located on the edge of the images affect the segmentation accuracy. We eliminate ten non-entire cells, located on the image border. Table 3 shows the obtained matrix confusion. Indeed, our segmentation focuses on the WBCs which include nucleus and cytoplasm. Even the diagnostic of experts is based essentially on this type of cells.

Table 3 Segmentation confusion matrix

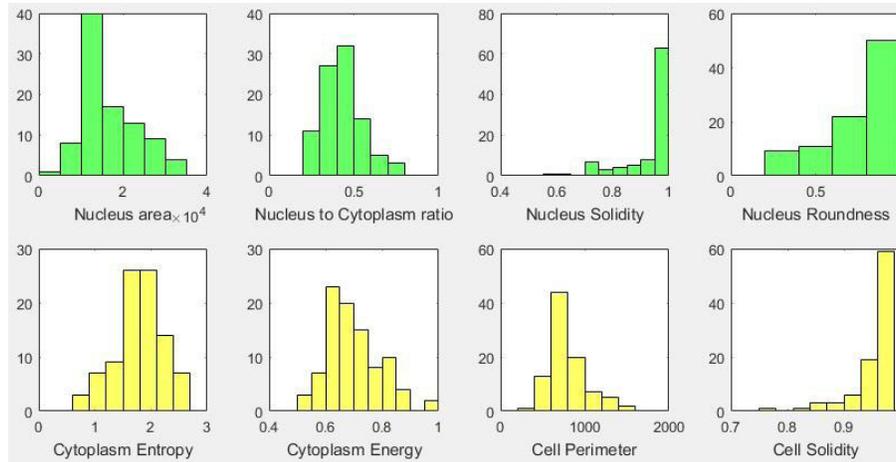
	<i>Nucleus</i>	<i>Cytoplasm</i>	<i>Other (red blood cells/background)</i>
<i>Nucleus</i>	0.9687	0.0313	0.0000
<i>Cytoplasm</i>	0.0431	0.9250	0.0319
<i>Other (red blood cells/background)</i>	0.0000	0.0025	0.9975

For a quantitative evaluation, we compare the performance of our experiments to the methods mentioned in the related work on the same images dataset (Benazzouz et al., 2013, 2015, 2016). As shown in Table 4, an average accuracy of 96.87% and 92.50% was obtained for nucleus and cytoplasm segmentation, respectively. Therefore, the proposed method achieved better results than Benazzouz et al. (2013, 2015, 2016) especially in cytoplasm regions. Indeed, our segmentation extracts the cytoplasm regions precisely even when the shape boundaries are irregular. We can note that the circularity criterion that prevents the deformation of the region growing in Benazzouz et al. (2015) and the misclassification between RBCs and some cytoplasm regions in Benazzouz et al. (2013, 2016) affect the segmentation accuracy.

4.2 Classification results

The proposed method classifies the WBCs into seven types: lymphocyte, monocyte, eosinophil, neutrophil, basophil, plasma cell including normal and dystrophic cells (LaFleur-Brooks, 2008; Sun, 2009) with a set of 20 extracted features to represent the WBCs (see Table 2), Figure 10 presents some features histograms that have been extracted on the WBCs subimages dataset. The classification is performed using the random forest algorithm that requires as inputs the number of trees forming the forest. After multiple tests, we opt for the typical value of 100 trees. Also, the segmentation stage extracts properly 145 subimages containing individual WBCs from the image dataset. The learning was done on 92 cells images and 53 were used for testing.

Figure 10 The histograms of eight extracted features from a set of twenty classification features (see online version for colours)



For the purpose of evaluation we calculate the class accuracy (8) and the overall accuracy (9) from the confusion matrix as:

$$AC_k = 100 \times \frac{T_{kk}}{\sum_{j=1}^M T_{kj}} \quad (8)$$

$$AC_{overall} = 100 \times \frac{\sum_{i=1}^M T_{ii}}{\sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^M T_{ij}} \quad (9)$$

where M is the classes number, T_{ij} is the number of samples of class i that are classified as samples of class j .

As shown in Table 5, we obtain an overall accuracy of 95.86% and a robust recognition of the majority classes (lymphocyte, monocyte, neutrophil and basophil). However, we observe some misclassification of eosinophil into neutrophil since the eosinophil and neutrophil nucleus have similar shape.

A first improvement with respect to the method described earlier by Benazzouz et al. (2015), where the authors separate WBCs into two classes (normal and dystrophic plasma cells vs. other types) in order to diagnose myeloma pathology, lies in the number of WBC classes that the proposed method can distinguish. The obtained plasma cells accuracy in their work is 75.25% due to the misclassification of most dystrophic plasma cells into other cells type. The proposed classification method provides an important improvement with an accuracy of 93.87% and 96.00% for normal and dystrophic plasma cells respectively (see Table 5). The main reason is that our classification algorithm employs morphological cell features in addition to the colour and texture features, since the segmentation stage is able to find the cells boundaries precisely. Nevertheless, it should be noted that some misclassification between normal and dystrophic plasma cells can be attributed to similar cells shape when even the human expert hardly recognises the difference.

5 Conclusions

In this paper, we have proposed an automatic differential WBCs count system to assist expert in medical diagnosis. The proposed system segments the WBCs nucleus and cytoplasm and then identifies the cell types by using colour, texture and shape properties. The experiments show good results in both segmentation and classification stage, considering the cells difference and the complex scenes, with an overall accuracy of 95.86%. These results show that the WBCs identification depend on both the nucleus and cytoplasm segmentation and the choice of discriminative characteristics. This approach could be generalised to a greater number of cells types by introducing new discriminative features.

References

- Arslan, S., Ozyurek, E. and Gunduz-Demir, C. (2014) ‘A color and shape based algorithm for segmentation of white blood cells in peripheral blood and bone marrow images’, *Journal of the International Society for Advancement of Cytometry*, Vol. 85, No. 6, pp.480–490.
- Baghli, I., Nakib, A., Sellam, E., Benazzouz, M., Chikh, A. and Petit, E. (2014) ‘Hybrid framework based on evidence theory for blood cell image segmentation’, *Proceeding of SPIE Medical Imaging 2014 Biomedical applications in Molecular, Structural, and Functional Imaging*, Vol. 9038, DOI: 10.1117/12.2042142.
- Benazzouz, M., Baghli, I. and Chikh, M.A. (2013) ‘Microscopic image segmentation based on pixel classification and dimensionality reduction’, *International Journal of Imaging Systems and Technology*, Vol. 23, No. 1, pp.22–28.
- Benazzouz, M., Baghli, I., Benomar, A., Ammar, M., Benmouna, Y. and Chikh, M.A. (2016) ‘Evidential segmentation scheme of bone marrow images’, *Advanced in Image and Video Processing Journal*, Vol. 4 No. 1, p.37 [online] <http://scholarpublishing.org/index.php/AIVP/article/view/1924>.
- Benazzouz, M., Baghli, I., Benomar, A., Benmouna, Y. and Ammar, M. (2015) *Automated Identification of Plasma Cell in Bone Marrow Images* [online] <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01466770> (accessed 2 January 2017).
- Berkley Statistics, *Random Forests (Version 2004)* [online] https://www.stat.berkeley.edu/~breiman/RandomForests/cc_home.htm (accessed 2 January 2017).
- Beucher, S. (1982) ‘Watersheds of functions and picture segmentation’, *IEEE International Conference on Acoustics, Speech, and Signal Processing*, DOI: 10.1109/ICASSP.1982.1171424.
- Breiman, L. (2001) ‘Random forests’, *Machine Learning*, Vol. 45, No. 1, pp.5–32.
- Chu, R., Zeng, X., Han, L. and Wang, M. (2015) ‘Subimage cosegmentation in a single white blood cell image’, in *IEEE 2015: Computational Intelligence, Communication Systems and Networks International Conference*, DOI: 10.1109/CICSyN.2015.36.
- Cseke, I. (1992) ‘A fast segmentation scheme for white blood cell images’, *Proceedings of the IAPR International Conference, IEEE, Pattern Recognition*, DOI: 10.1109/ICPR.1992.202041.
- Gillespie, A.R., Kahle, A.B. and Walker, R.E. (1986) ‘Color enhancement of highly correlated images. I. Decorrelation and HSI contrast stretches’, *Remote Sensing of Environment*, Vol. 20, No. 3, pp.209–235.
- Gonzales, R.C. and Wintz, P. (1977) *Digital Image Processing*, pp.103–112, 309–317, Addison-Wesley, Reading, MA.
- Haralick, R.M., Shanmugam, K. and Dinstein, I. (1973) ‘Textural features for image classification’, *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*, Vol. SMC-3, No. 6, pp.610–621.
- Huang, D.C. and Hung, K.D. (2012) ‘Leukocyte nucleus segmentation and recognition in color blood-smear images’, in *I2MTC 2012: The Instrumentation and Measurement Technology Conference, IEEE international*.
- LaFleur-Brooks, M. (2008) *Exploring Medical Language: A Student Directed Approach*, 7th ed., Mosby Elsevier, St. Louis, Missouri, USA.
- Lindblad, J. (2002) *Development of Algorithms for Digital Image Cytometry, Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology 789*, Uppsala University, Sweden, ISBN: 91-554-5497-6.
- Madhloom, H.T., Kareem, S.A. and Ariffin, H. (2012) ‘An image processing application for the localization and segmentation of lymphoblast cell using peripheral blood images’, *Journal of Medical Systems*, Vol. 36, No. 4, pp.2149–2158.

- Madhloom, H.T., Kareem, S.A. and Ariffin, H. (2013) 'A robust extraction and selection method for the recognition of lymphocytes versus acute lymphoblastic leukemia', *Proceeding IEEE 2013, International Conference on Advanced Computer Science Application and Technologies*, Vol. 36, No. 4, pp.2149–2158.
- Madhloom, H.T., Kareem, S.A., Ariffin, H., Zaidan, A.A., Alanazi, H.O. and Zaidan, B.B. (2010) 'An automated white blood cell nucleus localization and segmentation using image arithmetic and automatic threshold', *Journal of Applied Sciences*, Vol. 10, No. 11, pp.959–966.
- Otsu, N. (1979) 'A threshold selection method from gray-level histograms', *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, Vol. 9, No. 1, pp.62–66.
- Prinyakupt, J. and Pluempitiwiriwawej, C. (2015) 'Segmentation of white blood cells and comparison of cell morphology by linear and naïve Bayes classifiers', *BioMedical Engineering OnLine*, Vol. 14, p.63 [online] <http://doi.org/10.1186/s12938-015-0037-1>.
- Putzu, L. and Di Ruberto, C. (2013) 'White blood cells identification and counting from microscopic blood image', *International Journal of Medical, Health, Biomedical, Bioengineering and Pharmaceutical Engineering*, Vol. 7, No. 1, p.363.
- Ramoser, H., Laurain, V., Bischoff, H. and Ecker, R. (2005) 'Leukocyte segmentation and classification in blood-smear images', *Proceedings of the 2005 IEEE Engineering in Medicine and Biology 27th Conference*.
- Rezatofighi, S.H. and Soltanian-Zadeh, H. (2011) 'Automatic recognition of five types of white blood cells in peripheral blood', *Journal of Computerized Medical Imaging and Graphics*, Vol. 35, No. 4, pp.333–343.
- Sabino, D.M.U., Costa, L.F., Rizzatti, E.G. and Zago, M.A. (2004) 'A texture approach to leukocyte recognition', *Real-Time Imaging Journal*, Vol. 10, No. 4, pp.205–216.
- Soha, J.M. and Schwartz, A.A. (1978) 'Multispectral histogram normalization contrast enhancement', *Proceeding of the 5th Canadian Symposium on Remote Sens.*, Victoria, BC, Canada, pp.86–93.
- Sun, T. (2009) *Atlas of Hematologic Neoplasms*, 1st ed., Springer, USA.
- Theera-Umporn, N. and Dhompongsa, S. (2007) 'Morphological granulometric features of nucleus in automatic bone marrow white blood cell classification', *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine*, Vol. 11, No. 3, pp.353–359.

Résumé:

En hématologie, le concept de cytologie numérique permet aux pathologistes d'établir des diagnostics précis notamment en cancérologie (le myélome, les leucémies...), cette spécialité est basée sur l'aspect morphologique des cellules globules blancs (leucocyte) et l'extraction d'un ensemble de mesures quantitatives par une lecture et une analyse visuelle des images microscopiques médullaires et du sang périphérique afin de détecter les cellules anormales. La différenciation leucocytaire est une tâche délicate qui demande énormément de concentration et d'expérience. Pour cela, un système automatique est indispensable, non seulement pour assister le praticien et diminuer le risque d'erreur mais également afin de faciliter la lecture et réduire le temps. L'approche proposée pour automatiser ce processus est divisée en trois principales étapes : le prétraitement, la segmentation et la classification. Les méthodes employées sont basées essentiellement sur la couleur, la texture et les propriétés morphologiques des cellules. Ainsi, une nouvelle transformation couleur pour mettre en évidence les régions d'intérêts est d'abord présentée, suivi par une segmentation de ces régions par l'algorithme de la ligne de partage des eaux contrainte par marqueurs (Marker Controlled Watershed) et le classifieur à apprentissage supervisé des forêts aléatoires (Random Forests) pour différencier les globules blancs des globules rouges groupés et des artefacts. Le noyau et le cytoplasme sont ensuite séparés. Dans l'étape de classification des cellules, un ensemble d'attributs de couleur, de texture et de forme est extrait des régions du noyau, du cytoplasme et de la cellule entière dans le but d'identifier six types de globules blancs (neutrophile, basophile, éosinophile, monocyte, lymphocyte et plasmocyte), et au finale les performances du classifieur des forêt aléatoires sont comparées et évaluées sur un ensemble d'images microscopiques. Les résultats obtenus révèlent des précisions de reconnaissance élevées à la fois pour la segmentation et pour la classification atteignant les 95%.

Mots clés : cytologie sanguine, globules blancs ; segmentation cellulaire ; classification cellulaire; transformation couleur ; attributs texture ; attributs morphologique ; image du sang périphériques ; images médullaires.

Abstract:

In hematology, the concept of digital cytology allows pathologists to establish accurate diagnoses of several diseases including cancers (myeloma, leukemia ...), this specialty is based on the morphological appearance of white blood cells (leukocyte) and the extraction of a set of quantitative measures by screening and visual analysis of microscopic bone marrow and peripheral blood images to detect abnormal cells. Leukocyte differential count is a delicate task requiring concentration and experience of the expert. For that, computer analysis system is essential in order to assist experts, reduce the risk of error and reduce the time. The proposed approach to locate WBC is divided into three main stages: preprocessing, segmentation and classification. The main concepts of the methods employed are based on the color, texture and morphological properties of the white blood cells. Thus, a new color transformation to highlight the regions of interest is first presented, followed by the segmentation step, where two techniques have been used which are Marker Controlled Watershed algorithm to separate the cells regions and the Random Forests classifier to differentiate white blood cells from grouped red blood cells and artifacts. Then, the nucleus and the cytoplasm are separated. In the classification step, a set of color, texture and shape attributes are extracted from the nucleus, cytoplasm and whole cell regions in order to identify six types of white blood cells (neutrophil, basophil, eosinophil, monocyte, lymphocyte and plasma-cell), finally the performances of a random forest classifier on a set of microscopic images are compared and evaluated. The obtained results reveal high recognition accuracies for both segmentation and classification stage reaching 95%.

Keywords: cytology, white blood cells; cells segmentation; cells classification; color transformation; texture features; morphological features, peripheral blood images; bone marrow images.

ملخص:

في أمراض الدم، مفهوم علم الخلايا الرقمية يسمح للأطباء بوضع تشخيص دقيق بما في ذلك السرطان (الميلوما، سرطان الدم ...)، ويستند هذا التخصص على المظهر المورفولوجي لخلايا الدم البيضاء (الكريات البيضاء) واستخراج مجموعة من المواصفات الكمية من خلال القراءة والتحليل البصري للصور النخاعية المجهرية والدم المحيطي للكشف عن الخلايا غير الطبيعية. التعرف على الكريات البيضاء هو مهمة حساسة تتطلب قدراً كبيراً من التركيز والخبرة. لهذا تطوير نظام أوتوماتيكي ضروري، ليس فقط لمساعدة الممارس والحد من خطر الخطأ ولكن أيضاً لتسهيل القراءة وفي وقت أقل. وينقسم النهج المقترح لأتمتة هذه العملية إلى ثلاث مراحل رئيسية: المعالجة المسبقة والتجزئة والتصنيف. وتستخدم الطرق المستخدمة أساساً على اللون والملمس والخصائص المورفولوجية للخلايا. وهكذا، يقدم طريقة جديدة لتحويل اللون للمناطق ذات الاهتمام لإبرازها أولاً، تليها تقسيم هذه المناطق عن طريق خوارزمية خط تقسيم المياه والمصنف غابات عشوائية للتمييز بين خلايا الدم البيضاء من خلايا الدم الحمراء المجمعة والأخطاء. ثم يتم فصل النواة والسيتوبلازم. في خطوة تصنيف الخلايا، يتم استخراج مجموعة من الصفات اللون والملمس والشكل من المناطق الأساسية، من النواة ومن السيتوبلازم ومن الخلية بأكملها من أجل تحديد ستة أنواع من خلايا الدم البيضاء (العدلة، الخلايا القاعدية، الخلايا اليوزيني، الخلايا أحادية الخلية، الخلايا للمفاوية والبلازما)، وفي النهاية تتم مقارنة وتقييم أداء المصنف الغابات العشوائية على مجموعة من الصور المجهرية. وتكشف النتائج التي تم الحصول عليها عن درجات عالية من التقدير لكل من التجزئة والتصنيف إلى 95%.

كلمات أساسية : علم خلايا الدم؛ خلايا الدم البيضاء؛ تجزئة الخلية؛ تصنيف الخلية؛ تحويل اللون؛ سمات الملمس؛ الصفات المورفولوجية؛ صور الدم المحيطي؛ الصور النخاعية.