

APPROCHE QUANTITATIVE DE L'ANALYSE D'IMAGES  
CYTOLOGIQUES : SYSTEME SAMBA 200  
QUANTITATIVE APPROACH OF CYTOLOGICAL IMAGE ANALYSIS: SYSTEM SAMBA 200

CHASSERY, J.M.\*  
ADELH, D.\* \*

BRUGAL, G.\*  
MARTI BATLLE, R.\* \*

\* Lab. TIM 3 - EQUIPE RECONNAISSANCE DES FORMES, MICROSCOPIE QUANTITATIVE  
CERMO - BP 68 - 38402 SAINT MARTIN D'HERES CEDEX  
\* \* T.I.T.N. le Trident, Avenue de General de Gaulle 38000 Grenoble

**RESUME**

Dans le domaine biomédical, l'imagerie microscopique est destinée à rendre quantitatives la cytologie et l'histologie. Après une description des objectifs liés à ce domaine d'analyse, on concrétisera l'aspect matériel par la présentation de Système d'Analyse Microphotométrique à Balayage Automatique SAMBA 200.

Les performances de ce Système, tant sur le plan acquisition qu'analyse, seront détaillées et nous illustrerons divers résultats obtenus dans différents domaines de la biologie et de la médecine touchant aux problèmes de diagnostic et de pronostic.

**SUMMARY**

In the field of biomedical activities the microscopic imaging is dedicated to tender quantitative and objective both cytology and histology.

The main goals of microscopic image analysis are described and supported by the presentation of the specialized image processor SAMBA 200 (Système d'Analyse Microphotométrique à Balayage Automatique).

The way in which such an approach appears as very useful is illustrated with references to evaluation of cell cinetics and assistance to diagnosis in various applications such as hematology and bladder cancer prescreening.



APPROCHE QUANTITATIVE DE L'ANALYSE D'IMAGES  
CYTOLOGIQUES : SYSTEME SAMBA 200  
QUANTITATIVE APPROACH OF CYTOLOGICAL IMAGE ANALYSIS: SYSTEM SAMBA 200  
CHASSERY, J.M. - ADELH, D. - BRUGAL, G. - MARTI BATLLE, R.

## INTRODUCTION

En biologie médicale, l'observation de spécimens microscopiques est à la base des processus de dépistage, de diagnostic, de pronostic et de suivi thérapeutique. Ce travail est très souvent une activité de routine où l'observateur est le seul maître de la décision.

Très rapidement la nécessité est apparue d'automatiser au moins les phases de dépistage routinières dans un but de mieux consacrer l'observation aux cas pathologiques. L'observation microscopique est assujettie à de nombreux facteurs pouvant orienter la décision. Le contenu informatif des cellules ou des tissus est restreint par l'observateur à des critères d'ordre qualitatif qui permettent de différencier une cellule de son contexte ou des autres objets de l'image. On peut citer en exemple : cellule de plus grande taille que sa voisine, cellule à cytoplasme basophile granuleux.

Ce type de critère ne peut fournir d'éléments décisifs lorsque les échantillons présentés à l'observateur sont dispersés sur la lame et par conséquent au cours du temps d'observation. D'où la nécessité de pouvoir modéliser la perception visuelle et de pouvoir quantifier les éléments d'interprétation de l'observateur.

L'image acquise par le capteur étant considérée sous forme numérique, l'unité de traitement d'images est conçue pour extraire de la scène présentée un ensemble de paramètres affectés à chacune des régions composant la scène et traduisant sous un aspect numérique le contenu informatif des images à savoir les informations morphométriques de géométrie et de forme, les informations de couleur ainsi que l'aspect texture. C'est à ce niveau qu'intervient la théorie de la reconnaissance des formes afin de pouvoir extraire l'ensemble des caractéristiques de la scène analysée. C'est au niveau de l'unité de traitement que l'on devra concentrer les efforts afin d'obtenir des algorithmes d'analyse et de reconnaissance performants tant sur le plan complexité et capacité que sur le plan adéquation avec l'objectif à atteindre.

Les progrès les plus récents réalisés dans le domaine instrumental résultent principalement de l'utilisation des microprocesseurs qui peuvent être associés selon diverses architectures. Parmi celles-ci, les "array processors", ou groupements de microprocesseurs fonctionnant en parallèle, multiplient la vitesse d'exécution des traitements d'images par un facteur variant de 1 à 10 selon les applications (1). En outre, il convient de constater qu'une bonne définition des besoins d'analyse (résolution spatiale, résolution densitométrique, résolution spectrométrique, taille d'image, vitesse) est actuellement atteinte et que la plupart des paramètres pertinents pour la reconnaissance des types cellulaires sont connus pour les applications en cytologie hématologique et en cytologie exfoliative. L'exploitation de ces paramètres nécessite par contre de nombreux travaux de recherches. Dans ce contexte les nouveaux instruments, destinés spécifiquement à la cytologie automatique, présentent une architecture figée, voisine de celle des automates à formule leucocytaire, mais offrent une grande souplesse d'emploi car leurs unités de traitement, organisées autour de microprocesseurs, sont programmables pour des applications très variées en cytologie fondamentale ou médicale.

C'est dans cet esprit que le système SAMBA 200 a été réalisé permettant d'assurer une grande souplesse d'utilisation et un éventail non restrictif

d'applications.

### I - L'ANALYSEUR SAMBA 200

Le projet SAMBA est né de la collaboration entre trois groupes de l'Université de Grenoble.  
- l'atelier de Microinformatique du GIS Mini et Micro Informatique,  
- l'équipe de Reconnaissance des formes du laboratoire IMAG,  
- le laboratoire de Biologie Animale et le centre Hôpitalier Universitaire dont certains membres se sont regroupés à cet effet dans l'Equipe de Reconnaissance des formes et de Microscopie quantitative

Le développement de ce projet a bénéficié d'un contexte de pluridisciplinarité de recherche, lui prévaluant un intérêt rapide de la part de sociétés industrielles dont certains éléments se sont joints à cette équipe pour aboutir à la réalisation de SAMBA 200.

Le prototype de SAMBA comportait en 1975 un capteur d'images microscopiques connecté au centre Interuniversitaire de Calcul de Grenoble par ligne téléphonique. En 1978 il a été couplé à un mini-ordinateur (NORSK DATA ND105 de 128 kmots de mémoire centrale) afin de prouver son autonomie (2).

Ce prototype a permis de prouver l'intérêt de la microspectrophotométrie à balayage car il combinait la puissance de résolution spatiale (période spatiale d'échantillonnage de 0,5  $\mu\text{m}$ ), la puissance de quantification (256 niveaux pour un captage monochromatique à l'aide d'un photomultiplicateur), le captage d'images couleurs à l'aide de filtres, ainsi que la possibilité d'interaction entre le module de commande (ordinateur) et le module d'acquisition (microscope et platines à balayage permettant le déplacement de la préparation).

Sur la base de ce prototype, a été développé la version industrialisée SAMBA 200, sous la maîtrise d'oeuvre TITN (filiale THOMSON). L'idée du captage d'images couleur par photomultiplicateur ainsi que l'interaction entre les différents modules ont été conservées.

#### I.1 - Caractéristiques essentielles du système SAMBA 200 : Figure 1.

SAMBA 200 est sur le plan capteur un microscope doté de modules de commandes de déplacement et de mise au point de la préparation, d'un module de sélection de filtres et d'un module d'acquisition de l'image.

Le système possède 2 voies d'analyse :

- la première, à basse résolution, permet d'effectuer une analyse rapide d'une portion de surface de la lame afin de repérer les éléments susceptibles d'être soumis à une analyse plus fine,

- la deuxième, à haute résolution, permet d'effectuer une analyse densitométrique et morphométrique fine des objets précédemment repérés.

Nous allons détailler les descriptions caractérisant le microscope, les voies d'analyse et les organes de commande et de traitement.

#### Microscope :

Il s'agit d'un microscope conventionnel pouvant travailler en lumière transmise ou en lumière réfléchie disposant de platines à balayage, déplaçant la préparation selon 2 directions orthogonales X et Y par pas de 2,5  $\mu\text{m}$  avec une amplitude maximale de 25 mm chacune et une vitesse de 400 Hz.

APPROCHE QUANTITATIVE DE L'ANALYSE D'IMAGES  
CYTOLOGIQUES : SYSTEME SAMBA 200  
QUANTITATIVE APPROACH OF CYTOLOGICAL IMAGE ANALYSIS: SYSTEM SAMBA 200  
CHASSERY, J.M. - ADELH, D. - BRUGAL, G. - MARTI BATLE, R.

La mise au point automatique est réalisée en déplaçant la platine selon l'axe vertical au moyen d'un moteur pas à pas de 0,25 µm d'une fréquence de 400 Hz commandant le mouvement fin du microscope.

SAMBA 200 : SCHEMA FONCTIONNEL

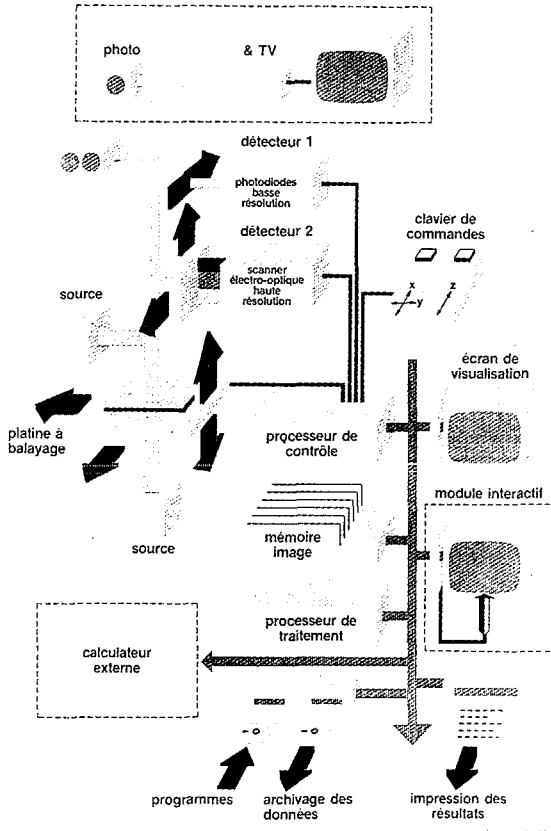


Figure 1. : Vue générale de l'analyseur d'images microscopiques SAMBA 200 et représentation de son schéma fonctionnel.

Les différentes sorties optiques permettent de visualiser la préparation, de diriger l'image sur une sortie photo et bien entendu de diriger le faisceau sur les détecteurs à basse et haute résolutions.

Détecteurs et voie d'analyse à basse résolution - figure 2.

Afin de détecter et localiser les éléments à analyser, une barrette de 256 photodiodes joue le rôle de détecteur. Par combinaison de l'exploitation de la barrette (40 KHz) et des déplacements de la préparation à l'aide de platines à balayage, on détecte les objets selon des critères associant la surface, le périmètre et la lumière transmise. A ce niveau, avec l'utilisation d'un objectif 100X, la résolution spatiale du point est de 2,5 µm.

Au terme de l'analyse à basse résolution, les adresses des objets détectés sont mémorisées et chaque objet va être présenté au capteur couleur haute résolution.

Voie d'analyse à haute résolution - figure 2.

Cette voie comprend un photomultiplicateur associé à un système de balayage de l'image constitué par 2 miroirs vibrants orthogonaux et d'un système automatique de commutation des filtres pour une acquisition couleur. Les miroirs effectuent un balayage de l'image en lignes successives. Chaque miroir effectue 64 pas et le signal photométrique est échantillonné sur 256 niveaux à une fréquence de 10K Hz. Une image 64 x 64 est alors acquise en 0,4 sec. et le temps nécessaire pour le changement de filtre et l'autofocalisation est de 0,1 sec.

La résolution spatiale est de 0,4 µm par point pour un objectif 100 X.

Au terme de l'acquisition à haute résolution chaque image est normalisée en 64 x 64 points sur 8 bits par point et par canal rouge, vert et bleu.

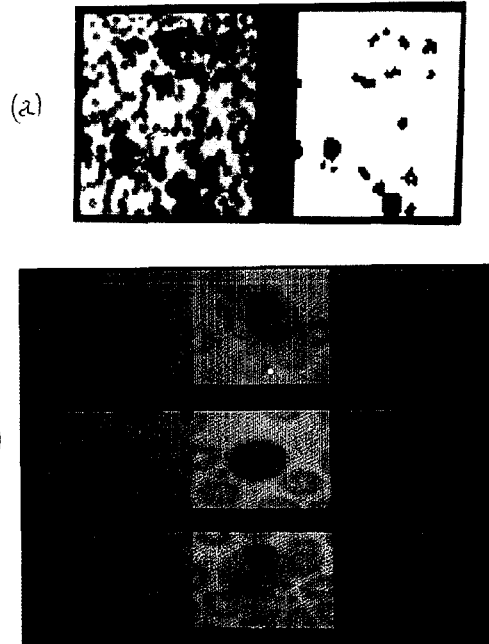


Figure 2 (a) : Illustration de l'acquisition à basse résolution. Les objets retenus sont représentés dans l'image binaire.

(b) : Ces objets sont centrés dans une image 64 x 64 et acquis à travers 3 filtres R,V,B.

Organes de commande et de traitement

La conception du système de commande et de traitement permet de remplir les fonctions suivantes :

- commande et contrôle des capteurs ;
- acquisition des images ;
- traitement des images ;
- traitement des données.

Les cartes de commande du capteur et de la gestion de l'acquisition permettent de contrôler et d'enchaîner l'autofocalisation, la lecture du capteur et le déplacement de la platine pour chacune des 2 voies.

Elles sont gérées par le processeur de commande qui a lui-même essentiellement deux fonctions :

- gestion du capteur ;
- gestion du moniteur d'affichage.

Ces deux fonctions se traduisent par la possibilité



APPROCHE QUANTITATIVE DE L'ANALYSE D'IMAGES  
CYTOLOGIQUES : SYSTEME SAMBA 200  
QUANTITATIVE APPROACH OF CYTOLOGICAL IMAGE ANALYSIS: SYSTEM SAMBA 200  
CHASSERY, J.M. - ADELH, D. - BRUGAL, G. - MARTI BATLLE, R.

de gérer l'acquisition d'une image, de communiquer une autre image au processeur de traitement des images et de visualiser.

Les programmes correspondant à une application donnée sont chargés dans la mémoire du processeur de traitement par l'intermédiaire d'un support cassette.

Le choix du processeur tient compte de la complexité des algorithmes de traitement et pour cela un micro-processeur 16 bits a été choisi.

Il est cependant, aidé par un processeur câblé qui effectue la transformation Rouge, Vert, Bleu en images de teinte, luminance et saturation, images sur lesquelles sont effectués les traitements.

Enfin un processeur externe (micro-ordinateur) sert d'interface entre l'opérateur et l'ensemble du système. Il permet de développer des programmes de traitement, d'accéder à des programmes de traitement au moyen de supports disquettes, d'archiver des données images ou données paramètres, et de connecter SAMBA 200 à une configuration mini-ordinateur.

L'ensemble de ces unités s'articule autour d'un bus microprocesseur (multibus Intel) permettant de ménager les possibilités d'extension du système tant en puissance de calcul, qu'en moyens périphériques et qu'en diversité de traitements.

## II - PARAMETRISATION

Au cours de ce paragraphe nous allons présenter l'ensemble des paramètres disponibles pour analyser les images acquises par le système SAMBA 200.

Concernant les méthodes de segmentation de cellules et des noyaux au sein des cellules, elles se basent soit sur une notion de similarité en recherchant des composantes connexes, soit sur une notion de dissimilarité en recherchant les contours délimitant les cellules et leurs noyaux (3).

Les méthodes basées sur la notion de similarité font intervenir soit des méthodes de seuillage, le seuil étant déterminé par analyse des histogrammes de luminance teinte et saturation soit par des méthodes itératives travaillant à des niveaux hiérarchiques d'interprétation au delà du point.

A un premier niveau on a la méthode classique de relaxation qui uniformise l'étiquetage d'éléments de régions ou taches. A un second niveau on a développé une méthode itérative de 'region growing' basée sur la concaténation de régions homogènes en couleur ou niveau de gris avec un critère de convergence lié à une hypothèse contextuelle concernant la géométrie des objets à segmenter. Dans le cas de la cytologie, ce contexte peut être associé à un critère de convexité de la forme de la cellule (4).

Concernant les méthodes fondées sur la dissimilarité, outre des méthodes classiques de gradient, on utilise également un processus hiérarchique faisant intervenir la recherche des points frontières, la concaténation de ceux-ci en éléments de frontières et enfin la détermination des frontières constituées d'une union fermée d'éléments de frontières liés les uns aux autres par des règles de syntaxe.

La recherche des points frontières fait elle-même intervenir une méthode d'approximation par fonctions splines permettant ainsi d'accéder à une image continue sur laquelle on recherche les points d'inflexion (3).

Les paramètres qui sont alors mesurés pour chaque cellule peuvent être distribués selon 3 catégories :

- paramètres de formes et paramètres géométriques ;
- paramètres de texture ;
- paramètres densitométriques et paramètres de couleur.

### Paramètres de formes (5)

Cette famille de paramètres a pour but de quantifier des critères quantitatifs de répartition des points du contour d'un objet. Concernant la cellule on aura essentiellement des notions de formes rondes ou ovales alors que le noyau se caractérisera par des structures plus complexes, structures incurvées, lobées ...

Outre les paramètres de dimensionnalité tels le périmètre P et la surface S de l'objet, les paramètres que l'on a sélectionnés sont sans dimension.

Nous en présenterons une simple énumération.

(a) facteur de forme défini par :

$$p^2 / s$$

Ce paramètre, couramment utilisé, est minimum pour une forme circulaire et croit en fonction de la complexité de la forme.

(b) facteur d'excentricité défini par

$$\frac{L}{l} \text{ où } L \text{ et } l \text{ désignent respectivement les}$$

dimensions du grand axe et du petit axe de l'ellipse de meilleure approximation (au sens moindres carrés) de la forme.

(c) facteur de régularité défini par :

$$\frac{M}{V} \text{ où } M \text{ et } V \text{ représentent respectivement la}$$

valeur moyenne et l'écart type des rayons vecteurs d'origine le centre de gravité et d'extrémités les points frontières.

(d) énergie de courbure calculée à partir du codage du contour à l'aide de la représentation de Freeman (6).

L'énergie de courbure est définie par :

$$\frac{1}{P} \sum_{i=1}^N \frac{(\Delta \theta_i)}{\Delta S_i} \text{ où } P \text{ représente le périmètre de la forme, } N \text{ le}$$

nombre de points frontières,  $\Delta \theta_i$  l'accroissement de l'orientation de la tangente lors de l'examen du point frontière et  $\Delta S_i$  la distance entre le point et son prédécesseur.

(e) le degré de convexité défini par :

$$\frac{S - S_C}{S_{C_0}} \text{ où } S_C \text{ représente la surface de l'enveloppe connexe.}$$

(f) Utilisant la représentation de Fourier du contour on définit un ensemble de paramètres traduisant la répartition des fréquences et par conséquent la distribution des variations de courbure.

Si  $z_0, z_1, \dots, z_{N-1}$  représente la suite complexe des coordonnées des points frontières ordonnés on définit par  $Z_0, Z_1, \dots, Z_{N-1}$  la suite des composantes obtenues par transformation de Fourier Discrète.

Cette suite nous permet de calculer les coordonnées du centre de gravité, les dimensions des axes de l'ellipse de meilleure approximation ainsi que deux autres paramètres qui tiennent compte des contraintes d'invariance en translation et en taille de l'objet à analyser.

$$\sum_{k \in E_1} |z_k| / \sum_{k \in E_2} |z_k| \text{ et } \sum_{k \in E_1} |z_k|^2 / \sum_{k \in E_2} |z_k|^2$$

où  $E_1$  et  $E_2$  forment une partition en basses et hautes fréquences de l'ensemble d'indices  $\{1, \dots, N-1\}$ .





APPROCHE QUANTITATIVE DE L'ANALYSE D'IMAGES  
CYTOLOGIQUES : SYSTEME SAMBA 200  
QUANTITATIVE APPROACH OF CYTOLOGICAL IMAGE ANALYSIS: SYSTEM SAMBA 200  
CHASSERY, J.M. - ADELH, D. - BRUGAL, G. - MARTI BATLLE, R.

L'évaluation de ces paramètres permet de quantifier la complexité de variation du contour (7).

#### Paramètres de texture (8)

Ces paramètres sont les principaux paramètres extraits du calcul des matrices de cooccurrence (9) et des matrices de longueur de sections (10). On peut citer en exemple les paramètres descripteurs de l'inertie, de l'entropie, du contraste, de l'importance des courtes et longues sections et de la distribution des longueurs des sections.

#### Couleur et paramètres densitométriques

L'information couleur est captée à l'aide de l'acquisition de la même image utilisant successivement 3 filtres à bande étroite associés aux couleurs fondamentales Rouge, Vert et Bleu. On peut à partir de ces informations retrouver les principes du modèle de vision en couleur en utilisant la transformation Rouge Vert Bleu Luminance Teinte et Saturation (11). La luminance est liée à la quantité de lumière émise par un objet coloré. La teinte est un attribut de couleur tiré de l'ensemble des désignations (rouge, vert, bleu, jaune, violet ...). La saturation est un facteur de pureté, quantifié par la quantité de blanc présent dans la couleur.

Les paramètres de couleur sont actuellement identiques aux paramètres densitométriques extraits des histogrammes de luminance, teinte et saturation. Etant donnée une représentation image A à l'aide de valeurs intensités (densité optique, luminance, teinte ou saturation) on définit l'histogramme associé à cette notion d'intensité par :

$$H(d) = \text{Card} \{ (I, J) ; A(I, J) = d \}$$

Les paramètres déduits de l'histogramme sont listés ci-dessous :

a) La valeur intégrée :  $VI = \sum_{d=1}^L d H(d)$

b) la valeur moyenne :  $VM = \frac{\sum_{d=1}^L d H(d)}{\sum_{d=1}^L H(d)}$

c) Ecart type :  $\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{d=1}^L (VM - d)^2 H(d)}{\sum_{d=1}^L H(d)}}$

d) Dissymétrie :  $\left( \frac{\sum_{d=1}^L (VM - d)^3 H(d)}{\sum_{d=1}^L H(d)} \right)^{1/3} / \sigma$

e) Aplatissement :  $\left( \frac{\sum_{d=1}^L (VM - d) H(d)}{\sum_{d=1}^L H(d)} \right)^{1/2} / \sigma$

La dissymétrie et l'aplatissement sont des paramètres associés à la forme de l'histogramme permettant de détecter la non uniformité de la distribution de la valeur intensité étudiée.

Tel est l'ensemble de paramètres actuellement utilisé pour les applications de l'analyseur SAMBA 200. Ces paramètres font l'objet de traitement par programmes de classification, analyse discriminante, analyse canonique, analyse en composantes principales (12, 13) dont nous allons voir les résultats au cours de quelques domaines précis d'intervention de l'analyseur SAMBA 200.

### III. DOMAINES D'APPLICATIONS DE L'ANALYSEUR SAMBA 200.

Un premier domaine d'application de l'analyseur SAMBA 200 concerne le comptage automatique de l'indice de marquage des leucocytes du sang circulant. Le travail s'effectue sur des préparations autoradiographiques permettant de faire apparaître des grains

de marquage (14).

A l'aide du détecteur à basse résolution, lors d'un premier passage seules les cellules marquées sont repérées et dénombrées. Ensuite lors d'un second passage l'ensemble des cellules est dénombré.

Dans ce type d'application seuls les paramètres de surface, de densité optique intégrée et le facteur de forme (Périmètre)<sup>2</sup>/Surface sont pris en compte lors du repérage des cellules. La fréquence moyenne d'analyse est de 1000 cellules par minute, ce qui démontre l'insertion possible de l'analyseur SAMBA 200 dans les phases de routine tel le comptage.

Un second domaine d'application concerne la cinétique cellulaire avec la reconnaissance des phases du cycle cellulaire (15). Cette reconnaissance est fondée sur l'analyse de paramètres évalués sur le noyau de la cellule. La cellule passe successivement d'une phase dénommée G<sub>1</sub> à la phase S, étape durant laquelle la chromatine se condense pour aboutir à la phase G<sub>2</sub> où le taux d'ADN du noyau a doublé (taux 4N) par rapport à celui de la phase initiale G<sub>1</sub> (taux 2N). Ensuite, au cours de la phase mitose, décomposée selon les phases prophase, métaphase, anaphase et télophase, on voit apparaître deux pôles de concentration de la chromatine portée par les chromosomes. Au terme de la phase G<sub>2</sub>, dans l'étape d'anaphase on a la séparation en deux cellules filles, chacune d'elles étant susceptible soit de rentrer en phase G<sub>1</sub> pour un nouveau cycle, soit de se situer en phase de repos G<sub>0</sub>.

Les paramètres de densité optique (notion corrélée à la mesure de l'ADN), de répartition de l'information image dans les différentes classes de l'histogramme permettent de traduire cette évolution du taux d'ADN de la valeur initiale 2N à la valeur 4N.

En figure 5, on présente des échantillons reconnus à travers des différentes phases. Cette répartition est présentée dans le plan factoriel correspondant aux deux premières variables principales de l'analyse canonique effectuée sur la population. On y retrouve la configuration du cycle cellulaire avec la distribution spatiale des phases entre elles.

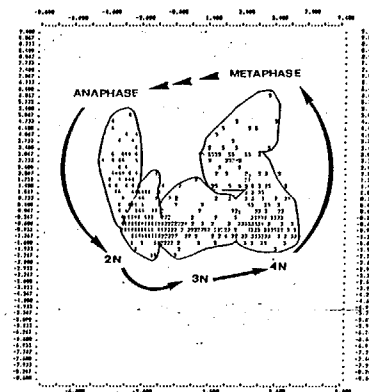


Figure 5 : Représentation dans le premier plan factoriel des phases du cycle cellulaire. Au niveau 2N on a la phase G<sub>1</sub>, au niveau 3N la phase S et au niveau 4N la phase G<sub>2</sub>.

Cette application entre dans le cadre des problèmes de différenciation d'échantillons cellulaires sur chacun desquels, l'information biologique a été quantifiée.

Un troisième domaine d'application concerne celui du dépistage de cancers de la vessie par l'examen des sédiments urinaires. Cette application est un exemple des problèmes de diagnostic et de pronostic où il s'agit d'émettre un message de ou de non suspicion de pathologie au terme de l'examen de la préparation. Ce problème de dépistage est toujours très délicat, notamment concernant la minimisation des déclarations fausses négatives sur le plan faisabilité de la méthode employée et la minimisation du nombre de faux positifs sur le plan crédibilité de la méthodologie. Concernant cette application précise il s'agit de reconnaître différents types de cellules selon leur caractère de malignité. Les paramètres utilisés concernent essentiellement des paramètres de taille de la cellule



APPROCHE QUANTITATIVE DE L'ANALYSE D'IMAGES  
CYTOLOGIQUES : SYSTEME SAMBA 200  
QUANTITATIVE APPROACH OF CYTOLOGICAL IMAGE ANALYSIS: SYSTEM SAMBA 200  
CHASSERY, J.M. - ADELH, D. - BRUGAL, G. - MARTI BATLLE, R.

et du noyau ainsi que des paramètres de texture du noyau.

La méthode employée fait appel à une structure hiérarchique d'arbre de décision permettant de partitionner successivement l'ensemble des échantillons proposés (16). Le degré de malignité de chaque individu est mesuré en fonction de la distribution des échantillons dans les différentes classes susceptibles d'être rencontrées, allant de la classe bénigne, à la classe maligne passant par les classes atypiques.

En figure 6, on a une représentation de la distribution des sédiments urinaires positifs et négatifs (anormal et normal) en fonction du pourcentage de cellules suspectes rencontrées et de la fonction discriminante évaluée à partir des fréquences d'occurrences des échantillons dans les différentes classes possibles. Malgré la nette séparation entre les cas normaux et les cas anormaux, le problème délicat est le choix de la frontière entre ces deux diagnostics.

Ceci constitue l'essentiel de l'étude clinique pour la mise en oeuvre des méthodes de dépistage automatique.

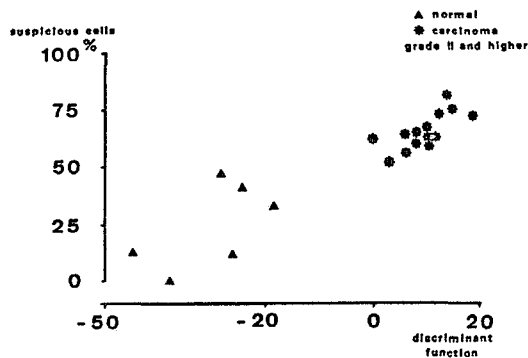


Figure 6 : Distribution d'individus (normaux et anormaux) en fonction du pourcentage de cellules suspectes rencontrées et d'une fonction discriminante évaluée sur la distribution des fréquences d'occurrence des échantillons de chaque individu au sein des différentes classes possibles.

Un quatrième domaine d'application de l'analyseur SAMBA 200 concerne plus particulièrement la modélisation de l'évolution de cellules au cours de leur maturation. Plus précisément il s'agit de l'étude de la reconnaissance des types cellulaires présents dans les différents stades de maturation des lignées de la moelle hématopoïétique humaine. Outre l'aspect identification des types cellulaires cette application doit permettre d'aboutir à une meilleure compréhension du positionnement des cellules leucémiques plus ou moins bloquées dans leur maturation.

L'évolution de la différenciation des types cellulaires au cours de la maturation correspond à la notion de lignée au début de laquelle la cellule est à un stade immature, et au terme de laquelle elle est à un stade mature. Les observations qualitatives concernant la couleur, la texture du cytoplasme et du noyau ainsi que la forme du noyau (voir chapitre précédent) ont été justifiées avec la recherche de paramètres pertinents permettant de caractériser chacun des types. De nombreux résultats permettant d'interpréter cette notion de maturation ont été obtenus et on montre en figure 7 un exemple de représentation de la distribution des différents types dans le premier plan factoriel associé à l'analyse canonique effectuée sur l'ensemble des individus (17). Cette application illustre comment l'information morphologique des cellules, obtenue à partir de l'analyse d'images, permet de modéliser l'évolution cytologique et aboutir à des interprétations qui jusqu'à présent étaient caractérisées soit par des observations qua-

litatives soit par des procédés biochimiques.

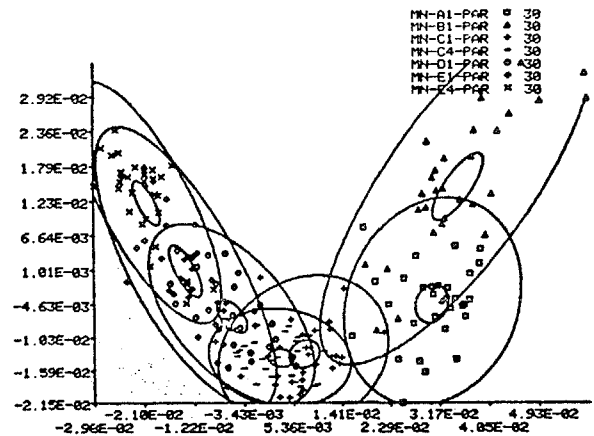


Figure 7 : Analyse discriminante et séparation dans le plan canonique des cellules de la lignée granuleuse neutrophile. Pour chaque type cellulaire, les ellipses représentent les intervalles de confiance pour la valeur moyenne de la population (petite ellipse) et pour l'ensemble de la population (grande ellipse). La différenciation s'effectue continuellement du stade A au stade E. Le passage à la maturation est situé entre les stades B et C.

#### CONCLUSION

L'instrument et les méthodes développés dans le système SAMBA 200 contribuent à une nouvelle approche dans l'utilisation du microscope par les biologistes et les médecins.

L'icongraphie médicale microscopique est immense et son contenu est très codifié ; elle est donc un matériel de choix pour évaluer la performance des algorithmes d'analyse des formes, des textures et des couleurs, aussi bien que celle des algorithmes d'aides à la décision.

De grands projets conceptuels, méthodologiques et technologiques restent cependant à accomplir pour que les analyseurs d'images associés au microscope deviennent des instruments communément utilisés pour aider le microscopiste dans ses diagnostics et ses pronostics par un gain en rapidité, en précision et en reproductibilité.

#### REFERENCES

- [1] DUFF, M.J.B. ; LEVIALDI, S. : Languages and Architectures for image processing - Acad. Press. p : 236, 1981
- [2] BRUGAL, G. ; CHASSERY, J.M. : Un système d'analyse densitométrique - Histochemistry, vol 52 pp 241-258, 1977
- [3] CHASSERY, J.M. ; GARBAY, C. ; CINQUIN, P. : Segmentation d'images cytologiques - Etude de méthodes.
- [4] CHASSERY, J.M. ; GARBAY, C. : An iterative segmentation method based on a contextual



APPROCHE QUANTITATIVE DE L'ANALYSE D'IMAGES  
CYTOLOGIQUES : SYSTEME SAMBA 200  
QUANTITATIVE APPROACH OF CYTOLOGICAL IMAGE ANALYSIS: SYSTEM SAMBA 200  
CHASSERY, J.M. - ADELH, D. - BRUGAL, G. - MARTI BATLLE, R.

color and shape criterion - Accepté pour publication PAMI.

- [5] PAVLIDIS, T. : Structural pattern recognition Springer Verlay ed. p : 302, 1977.
- [6] YOUNG, I.M. ; WALKER, J.E. ; BOWIE, J.E. : Analysis technique for biological shape Information control, 25, pp 357-370, 1974.
- [7] VEILLON, F. ; Toward a systematic study of shape measures - 7<sup>th</sup> I CPR, Montreal, 1984.
- [8] DAVIS, L.S. ; Image texture analysis techniques - Digital Image processing - J.C. SIMON et R.D. HARALICK eds. Reidel Pub. Co. pp 189-201, 1981.
- [9] HARALICK, R.M. ; SHANNOGAM, K. ; DINSTEIN, I. : Textural features for image classification. IEEE Trans. on Syst. Man and Cyb., vol 3, 6, pp 610-621, 1973.
- [10] GALLOWAY, M.D. : Texture analysis using gray level run lengths - Comp. graphics and Image Proc., 4, pp 172-179, 1975.
- [11] GARBAY, C. : Modélisation de la couleur dans le cadre de l'analyse d'images et son application à la cytologie automatique - Thèse de docteur ingénieur INPG, Grenoble 1979.
- [12] DIDAY, E. ; LEMAIRE, J. ; POUGET, J. ; TESTU, F. : Eléments d'analyse de données, Dunod, p : 461, 1982.
- [13] ALNACHAWATI, H. : classification et sélection des paramètres à l'aide de l'analyse de la variance à deux facteurs - Rapport de Recherche IMAG n° 355, Grenoble, 1983.
- [14] ROGERS, A.W. : Photometric measurements of grain density in autoradiographs, Journal of Microscopy, 96, pp : 141-153, 1971.
- [15] GIROUD, F. : Cell nucleus pattern analysis : geometric and densitometric featurinq, automatic cell phase identification - Biology of the cell, 44, 2, pp : 177-188, 1982.
- [16] BRUGAL, G. ; ADELH, D. ; VASSILAKOS, P. ; MARTI BATLLE, R. : Detection of bladder cancers using a SAMBA 200 cell Image processor - 4<sup>th</sup> Int Conf Aut. Diaq. Cytol. Montreal, 1983.
- [17] GAUVAIN, C. ; SEIGNEURIN, D. : Evaluation quantitative par Analyse d'Images des étapes de la lignée granuleuse neutrophile médullaire chez l'homme normal. 4ème Congrès Rec. des formes et Int. Artificielle AFCET-INRIA, pp 521-530, 1984.