

# SVETLANA: UN CLASSIFIEUR DE SEGMENTATION POUR NAPARI

Clément Cazorla, Renaud Morin \*

Pierre Weiss †

IMACTIV-3D  
1 place Pierre Potier, 31100 - Toulouse

CNRS & Université de Toulouse  
31400 - Toulouse

## ABSTRACT

Nous présentons un plugin Napari intitulé SVETLANA (SuperVised sEgmenTation cLAssifier for NapARi), et dédié à la classification manuelle ou automatique de résultats de segmentation en imagerie bio-médicale. De nombreux logiciels libres permettent aujourd'hui de segmenter automatiquement des objets complexes en 2D et 3D, tels que des cellules en biologie. Cependant, l'analyse ultérieure des résultats demeure inaccessible aux personnes non spécialisées. Ce plugin permet de choisir, d'entraîner et d'utiliser un réseau de neurones de classification tel qu'un ResNet. Ce dernier peut alors être utilisé comme un outil de post-traitement pour améliorer la segmentation, ou comme un classifieur pour diverses tâches (par exemple, la séparation de différentes populations cellulaires). Dans ce papier, nous décrivons ce plugin et l'appliquons à divers problèmes concrets de biologie cellulaire en imagerie 2D, 3D et multi-canaux.

**Index Terms**— Logiciel, Segmentation, Classification, Réseau de neurones convolutionnel, Imagerie bio-médicale, Analyse d'images, Microscopie

## 1. INTRODUCTION

Au cours de la dernière décennie, la segmentation automatique d'images biomédicales est devenue bien plus accessible aux utilisateurs non familiarisés avec le traitement du signal. Cela résulte de progrès en apprentissage automatique, de la création de bases de données d'entraînement en libre accès et du développement de logiciels libres ergonomiques. Des technologies telles que les réseaux neuronaux fournissent des résultats de segmentation sans précédent et permettent d'éviter d'optimiser des hyper-paramètres, souvent difficiles à régler et à interpréter. Parmi les outils actuels puissants et populaires de segmentation en biologie actuels, on peut citer Ilastik [1], CellPose [2], StarDist [3] ou Deep-ImageJ [4].

\*C. Cazorla est en partie financé par l'ANR CIFRE 2020/0843. Il tient à remercier la communauté du forum image.sc pour leur aide précieuse, ainsi qu'Atlantic Bone Screen et Neovirtech pour les données qu'ils ont fournies.

†P. Weiss tient à remercier le soutien de l'ANR-3IA Artificial and Natural Intelligence Toulouse Institute et de l'ANR Micro-Blind

## 1.1. Nos motivations

Les masques de segmentation, aussi bons soient-ils, sont rarement directement exploitables pour répondre à des questions biologiques. En effet, il est souvent nécessaire de classer les objets détectés afin d'effectuer des analyses statistiques apportant un éclairage pertinent sur les résultats. Si ces excellents outils de segmentation ont résolu un problème important, une partie difficile de l'analyse reste inaccessible à la majorité des utilisateurs.

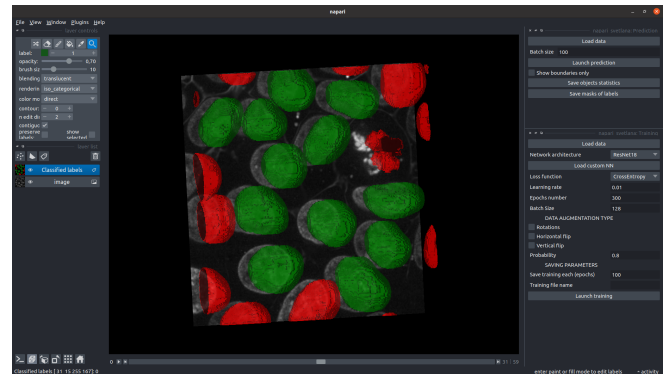
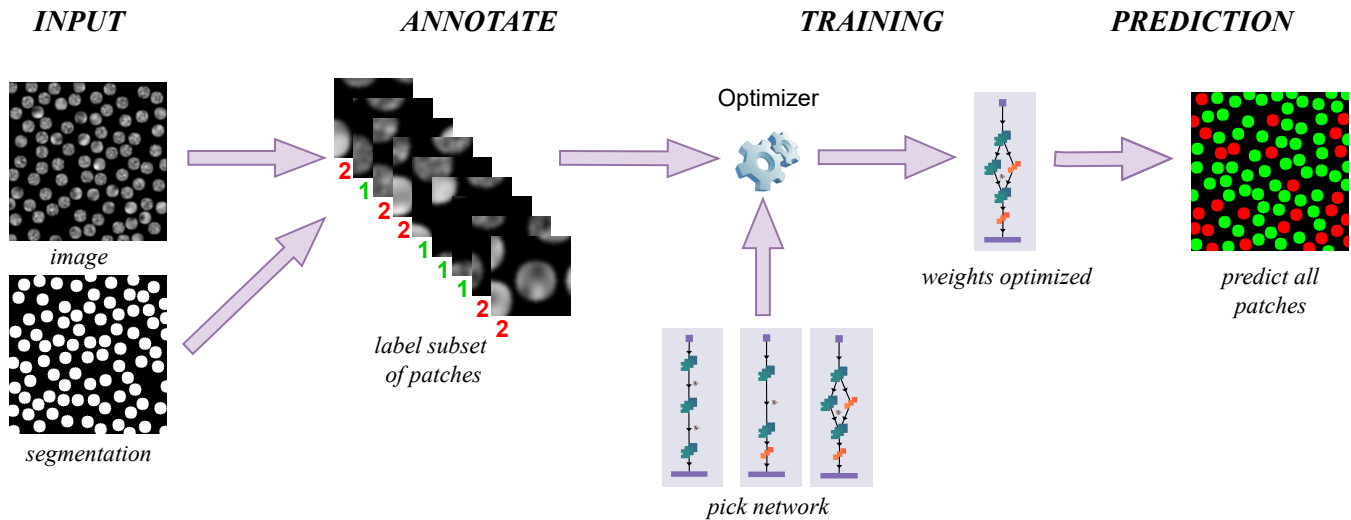


Fig. 1: Le plugin SVETLANA sous Napari.

## 1.2. Travaux connexes

Différentes options peuvent être adoptées pour segmenter et classer les objets dans les images. Avant 2010, la plupart des travaux reposaient sur la chaîne de traitement suivante (voir par exemple [5]) : 1) Segmenter l'image 2) Annoter le masque 3) En extraire des caractéristiques (les bords, les textures...) 4) Concevoir un classifieur reposant sur ces dernières. L'apprentissage supervisé et non supervisé ont alors progressivement fait leur apparition. Dans de nombreux cas, ils ont surpassé les routines créées par l'homme en permettant d'explorer plus de chemins de décision.

Un exemple remarquable de ce type de technologies est Ilastik : [1]. Quelques annotations de l'utilisateur sont généralement suffisantes pour effectuer des tâches de classification complexes avec un nombre arbitraire de classes. Il repose sur une forêt d'arbres décisionnels avec un nombre



**Fig. 2:** La chaîne de traitement du plugin SVETLANA.

fixe de caractéristiques (convolutions avec différents types de filtres). Bien que quelques clics suffisent pour résoudre de nombreux problèmes concrets, les performances des forêts d'arbres décisionnels sont en deçà de celles des routines de segmentation et de classification plus avancées, entraînées avec une vaste collection de données soigneusement labellisées.

Ainsi, lorsque la précision est cruciale, les réseaux de neurones convolutionnels sont généralement privilégiés. L'inconvénient de ces technologies est la nécessité de créer de grandes bases de données, qui sont généralement coûteuses, chronophages et nécessitent un savoir-faire non disponible dans tous les laboratoires. Pour remédier à ce problème, de nouvelles initiatives voient le jour afin de collecter de grandes bases de données d'entraînement hétérogènes. Par exemple, le Data Science Bowl [6] a permis d'entraîner un seul réseau neuronal, qui est désormais capable de segmenter des cellules de presque tous types. Cet outil, intégré dans des interfaces graphiques soignées (par exemple CellPose [2] ou StarDist [3]) est un atout de grande valeur pour la biologie. Malheureusement, à l'heure actuelle, il ne fournit pas d'outils de classification.

## 2. DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

L'objectif de SVETLANA est de fournir un outil accessible à tous afin de classifier les résultats de la segmentation, que ce soit manuellement ou automatiquement.

### 2.1. Le choix de Napari

Nous nous sommes fixé le cahier des charges suivant:

- Utilisation d'architectures hautement parallélisables

pour une meilleure efficacité d'exécution.

- Facilité d'intégration de nouveaux classificateurs qui pourraient émerger à l'avenir.
- Intégration dans un environnement fournissant des outils de segmentation performants et permettant de visualiser efficacement les résultats.

Ces considérations nous ont conduits à choisir l'environnement Napari. Il est développé en Python et comprend déjà des outils de segmentation de pointe tels que CellPose [2]. De plus, son développement est actuellement très rapide, de nouveaux plugin étant publiés chaque semaine.

### 2.2. Le plugin

**Le mode annotation** Ce premier sous-plugin prend deux images en entrée : l'image elle-même et son masque de segmentation. L'utilisateur peut également choisir le nombre de labels qu'il désire.

Les composantes connectées du masque de segmentation sont ensuite extraites à l'aide de la librairie python scikit-image. Deux paradigmes d'annotations sont alors proposés :

- L'utilisateur clique sur le composant connexe souhaité et l'annote.
- SVETLANA choisit aléatoirement un composant connexe, l'affiche avec son voisinage et l'utilisateur l'annote. Ce mode permet d'éviter un biais de l'utilisateur dans le choix des composantes connexes.

Lorsque l'utilisateur estime avoir proposé suffisamment d'annotations, il peut enregistrer les résultats dans un fichier binaire.

**Le mode entraînement** Dans ce mode, l'utilisateur peut :

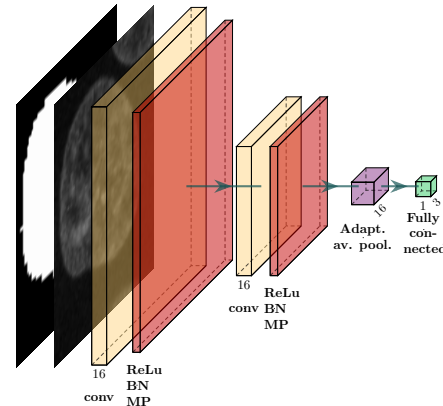
- Choisir une fonction coût.
- Choisir un réseau neuronal parmi une liste d'architectures pré-définies.
- Adapter les paramètres d'optimisation de l'optimiseur Adam.
- Choisir la taille du lot pour l'entraînement, en fonction des ressources mémoire disponibles.
- Choisir le type d'augmentation de données souhaité (aucune, retournements, rotations).
- Entraîner le réseau avec les paramètres précédents.

**Le mode de prédiction** Ce plugin permet de charger le réseau entraîné et de lancer la prédiction en choisissant la taille du lot. Il permet d'enregistrer les masques de segmentation correspondant à chaque label, ainsi qu'un fichier binaire contenant les caractéristiques morphologiques de tous les objets annotés.

**L'architecture du réseau** Entraîner un CNN de classification avec seulement quelques annotations (10-1000) en quelques secondes va à l'encontre des idées reçues. En effet, les architectures complexes telles que ResNet sont généralement entraînées pendant des heures sur d'énormes jeux de données. Il est donc légitime de se demander si la phase d'entraînement peut produire un bon classifieur. En pratique, il s'avère que cette approche donne d'assez bons résultats (voir section 3).

Mentionnons que quelques travaux récents soulignent que l'entraînement avec une quantité minimale de données est possible. C'est d'ailleurs un champ de recherche actif. Un exemple qui a motivé ce travail est Deep Image Prior [7]. Avec cette technologie, un vaste panel de problèmes inverses linéaires peuvent être résolus en utilisant une seule image comme entrée, et ce sans aucun entraînement. A notre connaissance, des fondements théoriques solides font toujours défaut.

Une interprétation possible de ce phénomène est le principe du rasoir d'Ockham. L'architecture du réseau neuronal et l'algorithme de formation semblent favoriser la réponse la plus "simple" compte tenu des observations. En particulier, nous avons observé que l'architecture joue un rôle critique. Dans nos expériences, les réseaux élémentaires sont souvent plus performants que les réseaux plus complexes. Ceci est tout à fait naturel, puisqu'un réseau neuronal avec peu de paramètres limite l'expressivité du classifieur et agit comme un régulariseur pour le problème. Par conséquent, dans toutes les expériences à venir, nous avons conçu et utilisé le réseau neuronal simple à 2 couches représenté sur la figure 3. Il ne contient que 3017 paramètres.



**Fig. 3:** Un réseau de neurones convolutionnel minimaliste à 2 couches.

### 3. EXPÉRIENCES NUMÉRIQUES

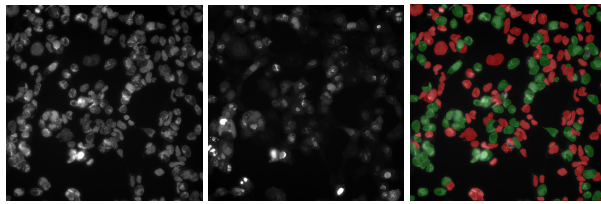
Concernant l'augmentation de données, nous avons simplement effectué des rotations des patches de 90° dans les 4 positions, de manière uniforme. Tous les calculs ont été effectués sur une Nvidia RTX5000 pourvue de 16 Go de mémoire.

#### 3.1. Expérience n°1 : classification en 3D

Nous illustrons ici la capacité de SVETLANA à classifier les cellules 3D. A cette fin, nous avons chargé une image 3D avec deux canaux. Elle peut être chargée avec *skimage.data.cells3d()* après avoir importé la librairie *skimage*. Nous avons décidé de distinguer les cellules qui ne sont pas en mitose et celles qui ne sont pas dans le champ de vue des autres. Pour ce faire, nous avons simplement annoté 5 cellules et entraîné le CNN. Les résultats de la classification sont parfaits pour cette tâche simple, et sont illustrés sur la figure 1.

#### 3.2. Expérience n°2 : Détection de cellules infectées en virologie

Les deux images à gauche de la figure 4 représentent deux canaux différents de cellules rénales embryonnaires humaines (HEK). Certaines d'entre elles sont infectées par un adénovirus. Le premier canal (à gauche) montre un marquage Hoechst des noyaux. Dans le second canal, les sites de prolifération virale ont été détectés à l'aide de la technologie ANCHOR [8]. Les cellules contenant des points lumineux dans le deuxième canal sont plus susceptibles d'être infectées. Nous avons annoté 100 cellules sur 245 (2 minutes) pour entraîner (30 secondes) le modèle à 2 couches et obtenu 95,5% de cellules bien classifiées.

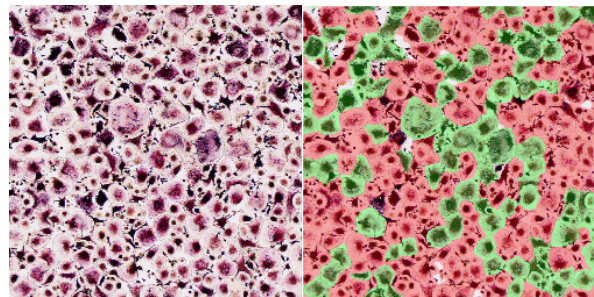


(a) Hoechst (b) ANCHOR (c) Résultat

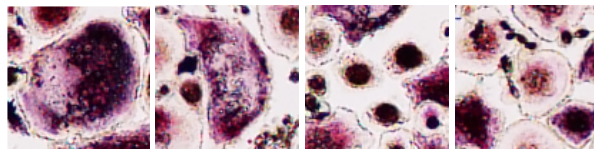
**Fig. 4:** Résultat de la classification des cellules infectées. L'image a été acquise et nous a été fournie par Neovirtech.

### 3.3. Expérience n°3 : Classification d'ostéoclastes

Dans cette expérience, nous souhaitons mieux comprendre et quantifier l'ostéoclastogénèse en culture cellulaire. Pour cela, nous quantifions la densité d'ostéoclastes activés. Cela permet de détecter des anomalies du squelette telles que l'ostéoporose.



(a) Image brute (b) Résultat de la classification



(c) Label 1 (d) Label 1 (e) Label 2 (f) Label 2

**Fig. 5:** Gauche : patch de taille  $750 \times 750$  d'une image  $8000 \times 8000$ . Droite : résultat de la classification avec un apprentissage sur 600 cellules (sur 16671). L'image a été fournie par Atlantic Bone Screen (ABS). La méthode a été initialisée sur la base d'annotations fournies par Atlantic Bone Screen.

## 4. DISCUSSION

Nous avons présenté un nouveau logiciel appelé SVETLANA pour la classification des résultats de segmentation dans l'environnement Napari. Nous avons montré à travers diverses applications que SVETLANA est un outil pratique pour l'analyse et la classification de populations cellulaires. Ce logiciel est encore à un stade précoce de développement et des fonctionnalités supplémentaires seront ajoutées grâce

aux retours des utilisateurs. Il est installable directement depuis le gestionnaire de package de Napari. Une évaluation plus systématique des performances des réseaux neuronaux proposés, par rapport à des approches alternatives telles que les arbres de décision est toujours en cours. Par le biais de cet article, nous souhaitons faire connaître ce travail, qui, nous l'espérons, s'avérera précieux pour la communauté biomédicale (et au-delà).

## 5. REFERENCES

- [1] S. Berg, D. Kutra, T. Kroeger, C. N. Straehle, B. X. Kausler, C. Haubold, M. Schiegg, J. Ales, T. Beier, M. Rudy, *et al.*, "Ilastik: interactive machine learning for (bio) image analysis," *Nature Methods*, vol. 16, no. 12, pp. 1226–1232, 2019.
- [2] C. Stringer, T. Wang, M. Michaelos, and M. Pachitariu, "Cellpose: a generalist algorithm for cellular segmentation," *Nature methods*, vol. 18, no. 1, pp. 100–106, 2021.
- [3] E. Fazeli, N. H. Roy, G. Follain, R. F. Laine, L. von Chamier, P. E. Hänninen, J. E. Eriksson, J.-Y. Tin-evez, and G. Jacquemet, "Automated cell tracking using StarDist and TrackMate," *F1000Research*, vol. 9, 2020.
- [4] E. Gómez-de Mariscal, C. García-López-de Haro, W. Ouyang, L. Donati, E. Lundberg, M. Unser, A. Muñoz-Barrutia, and D. Sage, "DeepImageJ: A user-friendly environment to run deep learning models in ImageJ," *Nature Methods*, vol. 18, no. 10, pp. 1192–1195, 2021.
- [5] H. Irshad, A. Veillard, L. Roux, and D. Racocanu, "Methods for nuclei detection, segmentation, and classification in digital histopathology: a review—current status and future potential," *IEEE reviews in biomedical engineering*, vol. 7, pp. 97–114, 2013.
- [6] J. C. Caicedo, A. Goodman, K. W. Karhohs, B. A. Cimini, J. Ackerman, M. Haghighi, C. Heng, T. Becker, M. Doan, C. McQuin, *et al.*, "Nucleus segmentation across imaging experiments: the 2018 data science bowl," *Nature methods*, vol. 16, no. 12, pp. 1247–1253, 2019.
- [7] V. Lempitsky, A. Vedaldi, and D. Ulyanov, "Deep image prior," in *2018 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, pp. 9446–9454, IEEE, 2018.
- [8] B. Mariamé, S. Kappler-Gratias, M. Kappler, S. Balor, F. Gallardo, and K. Bystricky, "Real-time visualization and quantification of human cytomegalovirus replication in living cells using the ANCHOR DNA labeling technology," *Journal of Virology*, vol. 92, no. 18, pp. e00571–18, 2018.