# Amélioration de l'étiquetage automatique des boîtes de Pétri avec des algorithmes d'IA

<u>Victorien Quevit</u><sup>1,2,3</sup>, <u>Jean-Marc Laferte</u><sup>2</sup>, <u>Alain-Jerome Fougeres</u><sup>2</sup>, <u>Hayet Djelal</u><sup>4</sup>, <u>Jean-Louis</u> Dillenseger<sup>1</sup>, <u>Emmanuel Jalenques</u><sup>3</sup>

<sup>1</sup> Univ Rennes, Inserm, LTSI - UMR 1099, F-35000 Rennes, France
<sup>2</sup> ECAM Rennes, Louis de Broglie, Campus de Ker Lann, Bruz, Rennes 35091, France
<sup>3</sup> Interscience, 30 Chem. du Bois des Arpents, 78860 Saint-Nom-la-Bretèche
<sup>4</sup> UniLaSalle Rennes, Campus de Ker Lann, Av. Robert Schuman, 35170 Bruz

**Résumé** – L'étude rapportée dans cet article vise à améliorer la précision de la labélisation sur les images de boîtes de Pétri contenant des 'Unités Formant Colonie' à l'aide d'algorithmes d'intelligence artificielle. En effet, les méthodes d'étiquetage proposées par les logiciels classiques de vision par ordinateur comme ScanStation, sont sujets à des erreurs et la correction manuelle est une tâche complexe et fastidieuse. Nous proposons une approche basée sur des modèles d'intelligence artificielle. Dans un premier temps, un modèle YOLO est entraîné sur les labels existants fournis par ScanStation. Les boîtes englobantes générées par ScanStation et YOLO sont ensuite binarisées à l'aide de l'algorithme OTSU pour obtenir des labels sémantiques qui sont utilisées pour entraîner un réseau U-Net. Ensuite, un modèle Xception est entraîné pour classer tous les segments générés par le U-Net comme *outlier* ou *UFC*. In fine, les modèles U-Net et Xception entraînés sont utilisés pour améliorer la labélisation de ScanStation. Les résultats indiquent que l'approche proposée améliore la précision du processus sans correction humaine.

**Abstract** – The present study aims to improve the accuracy of labels on Petri dish images containing Colony Forming Units using Artificial Intelligence algorithms. Indeed, the labeling methods proposed by classical computer vision software such as ScanStation for example, are prone to errors and the manual correction of these errors is a difficult task. We propose a methodology based on AI models. At first, a YOLO model is trained on the existing labels given by ScanStation. The bounding boxes provided by ScanStation and YOLO are then binarized using the OTSU algorithm to generate semantic labels that are used to train a U-Net. Then, a Xception model is trained to classify all the segments generated by the U-Net as either *outlier* or *colony*. For new data, the trained U-Net and Xception models are used to improve the labeling. The results indicate that the proposed approach improves the accuracy of the labeling process without human correction.

#### 1 Introduction

La contamination microbienne est un phénomène omniprésent qui représente une menace significative pour la santé humaine dans le monde entier. Les microorganismes, comprenant les bactéries, les virus, les champignons et les parasites, peuvent causer une large gamme d'infections, de maladies et même la mort.

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) [1], environ 10% de la population mondiale, soit environ 600 millions de personnes, contractent chaque année une maladie causée par la consommation d'aliments contaminés, ce qui entraîne 420 000 décès.

La meilleure façon de prévenir une infection microbienne est d'analyser les échantillons pour repérer la présence de bactéries et d'autres micro-organismes nocifs. Cependant, leur petite taille ne les rend pas directement visibles à l'œil nu, et un équipement coûteux est souvent nécessaire pour détecter et quantifier avec précision ces micro-organismes.

Les boîtes de Pétri fournissent une solution alternative simple et peu coûteuse à ce problème. Lorsqu'un échantillon est placé sur une boîte de Pétri contenant un milieu riche en nutriments, chaque cellule bactérienne commencera à se développer et à se diviser, formant une colonie ou une "Unité Formant une Colonie" (UFC) comme présenté dans la figure 1. Une UFC est essentiellement un amas visible de bactéries identiques qui ont émergé d'une seule cellule bactérienne dans l'échantillon. En comptant le nombre d'UFC sur une boîte de Pétri, nous pouvons estimer le nombre de bactéries présentes dans l'échantillon d'origine.



Figure 1 : Croissance d'une UFC à h+0, h+6, h+12, h+18 et h+24 après incubation (de gauche à droite)

Le nombre d'UFC est généralement compris entre 30 et 300 dans une seule boîte de Pétri, habituellement de 90 mm de diamètre (figure 2).

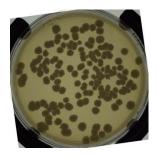


Figure 2 : Image d'une boite de Pétri après 24 heures d'incubation

Le comptage des UFC dans les boîtes de Pétri est un processus essentiel pour diverses industries, notamment alimentaires mais aussi cosmétiques et pharmaceutiques. Un comptage précis des UFC permet de déterminer la sécurité et la qualité de ces produits industriels pour la consommation ou l'utilisation, ce qui en fait une étape cruciale du processus de fabrication.

Pour évaluer les logiciels de comptage automatique, ou pour développer un modèle de détection supervisé, il est donc essentiel de labeliser avec précision les images des boîtes de Pétri contenant des UFC, c'est-à-dire, de marquer par des boites englobantes les UFC présentes dans la boite.

La méthode d'étiquetage traditionnelle implique un comptage manuel. Cependant, le comptage des UFC est un processus long et laborieux qui nécessite des techniciens qualifiés ayant un sens aigu du détail. De plus, l'interprétation visuelle peut être subjective, cela se manifeste par la non-reproductibilité exacte d'une labellisation entre deux microbiologistes, notamment sur les boites comptant de nombreuses UFC ou des agglomérats. De plus, le processus de comptage est affecté par divers facteurs tels que les conditions d'éclairage, la forme et la taille des UFC, et l'expérience

de l'observateur. Cela peut entraîner une variabilité et des erreurs dans la labélisation, affectant l'exactitude et la fiabilité de l'analyse. Pour surmonter ce défi, des algorithmes d'intelligence artificielle (IA) ont été explorés ces dernières années [2, 3]. Cependant, ces algorithmes nécessitent un vaste jeu de données correctement labellisé. Dans cette étude, nous proposons une approche basée sur l'IA appelée « Autolabel » pour améliorer la précision de la labellisation des images de boîtes de Pétri contenant des UFC. Plus précisément, nous utilisons une combinaison des algorithmes YOLO [4] pour la détection, U-Net [5] pour la segmentation et Xception [6] pour la classification afin de générer des labels plus précis et plus fiables.

Le détail de notre approche se compose de trois volets majeurs décrit dans la section 2 : la stratégie d'apprentissage (2.1), l'inférence (2.2) et les données d'entraînement et de test (2.3). Les résultats de notre étude sont présentés dans la section 3, tandis qu'une conclusion sur l'efficacité de notre approche est tirée dans la section 4. Enfin, les perspectives de cette recherche sont examinées dans la section 5.

## 2 Approche proposée

## 2.1 Stratégie d'apprentissage

La labélisation des UFC donné par des outils tel que ScanStation (un incubateur fabriqué par Interscience équipé d'un programme de vision par ordinateur qui analyse la boite tout au long de son processus d'incubation, et permettant de repérer les UFC en croissance), n'est pas parfait et contient quelques erreurs, principalement sur le bord de la boîte ou dans des cas de dénombrement difficile. Pour résoudre ce problème, nous avons proposé le processus suivant dont les étapes sont décrites dans le diagramme 1 :

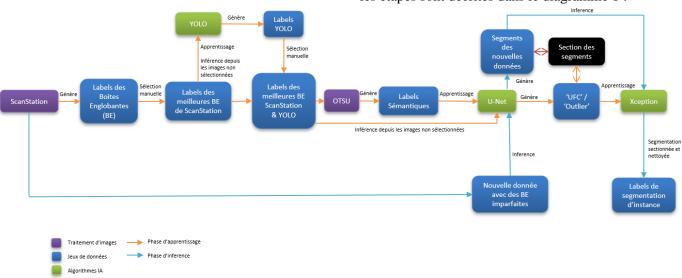


Diagramme 1 : Représentation d'Autolabel, les cases violettes englobent les algorithmes classiques de traitement d'image, les cases vertes signifient les réseaux de neurones, la case noire représente un programme de base et les cases bleues indiquent des jeux de données. Le parcours orange symbolise la phase d'apprentissage, tandis que la voie bleue correspond au processus d'inférence.

1) L'algorithme d'apprentissage YOLO a été utilisé pour relabeliser les images des boîtes de Pétri que ScanStation n'a pas réussi à bien étiqueter. En sélectionnant manuellement les meilleures images de boîtes de Pétri (étiquetées par ScanStation) pour entraîner YOLO, puis en utilisant le modèle entraîné pour étiqueter les autres images de boîtes de Pétri (figure 3), un grand nombre de boîtes englobantes a été généré par YOLO.



Figure 3: Détection d'UFC par YOLO

2) Afin d'obtenir des labels sémantiques, la méthode de seuillage Otsu a été utilisée pour binariser le contenu des boîtes englobantes provenant de ScanStation ou de YOLO (figure 4).

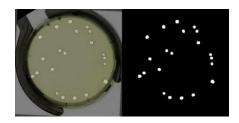


Figure 4: Segmentation d'UFC avec OTSU

3) Ces combinaisons de boîtes englobantes binarisées sont ensuite utilisées comme label sémantique pour entraîner un modèle U-Net, un réseau neuronal convolutif utilisé pour la segmentation d'images. Les segments de sortie du modèle U-Net sont visibles sur la figure 5.

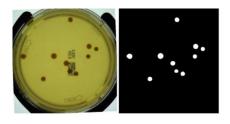


Figure 5 : Résultat de U-Net

4) Les segments de sortie du U-Net sont ensuite classés en 'UFC' ou en 'Outlier'. Pour ce faire, un modèle basé sur Xception, couramment utilisé pour la classification d'images a été entrainé avec deux jeux de données (un par classe). Pour la classe 'UFC', nous avons utilisé les segments donnés par U-Net qui ont été identifiés à l'intérieur d'une boîte englobante donnée par ScanStation et YOLO. Pour la classe 'Outlier', nous

avons pris les segments donnés par U-Net à partir de boîtes sans UFC (avant la croissance des microorganismes mais avec tous les artefacts comme les bulles, les annotations, les impuretés, etc.). Si un segment contient plusieurs boites englobantes, nous les sectionnons en fonction de la distance au centre normalisée par la taille de la boite englobante. Les résultats de cette section de segment sont visibles en figure 6, et un exemple de segment supprimé par Xception (bulle) est représenté en figure 7.



Figure 6 : Section de deux segments d'agglomérat



Figure 7 : Classification d'un segment en 'outlier' (bulle)

#### 2.2 Inférence

Une fois l'apprentissage terminé, l'inférence est effectuée en injectant les nouvelles données dans le modèle U-Net pour une segmentation, suivie de Xception pour une classification. La figure 8 montre les résultats de notre algorithme d'étiquetage amélioré «Autolabel». Les colonies individuelles sont identifiées par différentes nuances de violet.

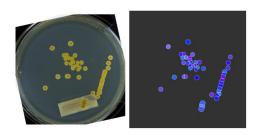


Figure 8 : Résultat de notre méthode

Pour comparer les résultats avec ceux de la méthode originale, nous avons transformé les segments individuels en boîtes englobantes.

#### 2.3 Données d'entrainement et de test

Au cours de la phase d'entrainement, nous avons utilisé un jeu de données composé de 11 900 séquences d'images de boîtes de Pétri acquises et annotées par ScanStation. Nous avons choisi un total de 989 boîtes de Pétri en nous basant sur les meilleurs résultats visuellement apparents de ScanStation sur la dernière image de la séquence pour l'apprentissage de YOLO.

Le jeu de données U-Net contient 7584 images sélectionnées sur la base du meilleur résultat de binarisation Otsu des boîtes englobantes générées par YOLO et Scanstation. Enfin, pour l'entraînement du classificateur Xception, nous avons fourni un nombre égal de segments des deux classes (13 027).

Nous avons effectué le test sur un ensemble distinct de 166 images contenants plusieurs dizaines d'UFC capturées par ScanStation. Les résultats corrigés manuellement ont servi de vérité terrain.

Il convient de noter que, contrairement au jeu de données d'entrainement qui ne contenait que les meilleurs résultats de ScanStation, celui de test utilisé pour évaluer notre méthode contient principalement des images de boîtes de Pétri avec des tâches de comptage difficiles : des agglomérats et/ou des nombres élevés d'UFC.

#### 3 Résultats

La mesure classique pour évaluer les algorithmes de détection d'objets est la mesure Intersection sur Union (IoU). Cependant, étant donnée la délimitation partiale des boites englobantes, nous proposons d'adopter une métrique basée sur un critère de distance (entre le centre prédiction et le centre de vérité de terrain de la colonie) et sur un critère de forme (rayon moyen des colonies prédites et des colonies de vérité de terrain). Cette nouvelle métrique appelée 'Distance Normalisée par le Rayon Moyen' (DNRM) est définie comme suit :

$$\text{DNRM} = 1 - \frac{d(C_{GT}, C_{Pred})}{avg(Rad_{GT}, Rad_{Pred})}$$

où *GT* est la vérité terrain, *Pred* est la prédiction réalisée soit par ScanStation soit par notre méthode, *C* est un centre dans une position spatiale 2D, et *Rad* est le rayon.

Avec cette métrique, nous pouvons appliquer un seuil de 0,5 pour définir si une colonie est détectée ou non par rapport à la vérité terrain. Cela nous permet d'évaluer notre méthode à l'aide des critères classiques : *Précision, Rappel* et *Score F1*. Le tableau 1 présente la précision, le rappel et le score F1 obtenus par ScanStation et notre méthode d'étiquetage sur les images des boîtes de Pétri de la base d'inférence.

Tab 1 : Comparaison de la précision, du rappel et du score F1

	Précision	Rappel	Score F1
ScanStation	0,622	0,590	0,606
AutoLabel	0,808	0,683	0,740

Les résultats montrent clairement que la nouvelle méthode « Autolabel » est plus performante qu'une méthode classique type ScanStation en termes de précision, de rappel et de score F1.

Cependant, nous avons constaté que certaines UFC ne sont toujours pas détectées, en particulier les très petites UFC, en raison de la limite de résolution d'U-Net (512x512px) imposée par la taille de la mémoire du GPU que nous avons utilisé (RTX 2080Ti).

## 4 Conclusion

Dans l'ensemble, cette étude met en évidence la possibilité d'utiliser des algorithmes d'IA pour améliorer la précision de la détection avant une phase de correction manuelle, qui est généralement une tâche couteuse en temps et qui nécessite beaucoup de maind'œuvre. Notre approche exploite la puissance de la généralisation de l'IA pour améliorer la précision de l'étiquetage des images de boîtes de Pétri, en utilisant plusieurs algorithmes en cascade, ce qui se traduit par une meilleure détection des UFC. Bien que les résultats notre étude démontrent une amélioration significative de la précision de l'étiquetage des boîtes de Pétri, nous sommes convaincus qu'il existe encore un énorme potentiel d'amélioration.

## 5 Perspectives

Dans de futurs travaux de recherche, nous prévoyons d'appliquer l'approche proposée pour améliorer la précision des labels d'un plus grand ensemble de données d'images de boîtes de Pétri. Nous souhaitons utiliser les labels générés pour entraîner un modèle de détection tel que YOLO ou Mask R-CNN [7]. Notre objectif final est de développer un modèle de détection robuste et précis pouvant être utilisé pour détection et la classification de colonies bactériennes.

#### 6 Références

- [1]. Organisation mondiale de la santé, 'Sécurité sanitaire des aliments' 6 août 2020
- [2]. A. Ferrari et al. Bacterial colony counting with convolutional neural networks in digital microbiology imaging. Pattern Recognition, 2017, 61, p. 629-640.
- [3]. T. Beznik, et al. "Deep learning to detect bacterial colonies for the production of vaccines." Neurocomputing 470 (2022): 427-431.
- [4]. J. Redmon et al. You only look once: Unified, real-time object detection. IEEE CVPR. 2016. p. 779-788.
- [5]. O. Ronneberger et al.. U-Net: Convolutional networks for biomedical image segmentation. MICCAI 2015: p. 234-241.
- [6]. F. Chollet. Xception: Deep learning with depthwise separable convolutions. IEEE CVPR. 2017. p. 1251-1258.
- [7]. K. He et al. Mask R-CNN. IEEE ICCV. 2017. p. 2961-2969.