

ETUDE DE FAISABILITE EN VUE D'UNE RECONNAISSANCE DE PLAQUETTES SANGUINES

FEASABILITY STUDY FOR AUTOMATIC RECOGNITION OF BLOOD PLATELETS

Jacqueline LE MOIGNE¹

I.N.R.I.A. Domaine de Voluceau Rocquencourt -78150- LE CHESNAY

RESUME

Une étude biologique comparative, microscopie électronique - microscopie optique, a permis de mettre en évidence la corrélation entre la morphologie et la fonction biologique des plaquettes sanguines, ceci qualitativement [2]. Notre étude utilise les techniques de traitement d'images et de reconnaissance des formes pour classer automatiquement les plaquettes parmi les huit catégories définies par l'étude biologique citée ci-dessus.

L'étude réalisée répond donc à plusieurs objectifs :

- tout d'abord, cette étude peut aider à une quantification précise de la corrélation "morphologie-fonction" des plaquettes (dans un but essentiellement transfusionnel).
- puis une fois cette corrélation établie, ce travail pourrait servir de base à la réalisation d'un système de contrôle en routine des produits transfusionnels.
- de plus, cette étude peut également aider à mettre au point une quantification des altérations morphologiques intervenant dans certaines affections.
- enfin, les méthodes utilisées pour l'analyse d'images de cellules vivantes évoluant dans un milieu liquide peuvent s'appliquer à d'autres objets biologiques.

Les objets observés sont des cellules vivantes (donc tridimensionnelles) évoluant dans un milieu liquide. Pour ces raisons il peut donc être insuffisant de n'en déterminer la forme qu'à partir d'une unique représentation bidimensionnelle. C'est pourquoi la majeure partie des images que nous avons utilisées provient d'un microscope à contraste interférentiel qui permet de restituer une partie de l'information volumique (dans une seule direction). De plus, nous avons reconstitué la démarche de l'observateur humain: observation des cellules en mouvement et mise au point sur différents plans de netteté. Le nombre de plans traités peut varier entre 4 et 6.

L'algorithme est alors le suivant :

- 1 - Segmentation de chaque plan du même champ en objets "intéressants".
- 2 - Mise en correspondance des différents plans en utilisant les segmentations précédentes.
- 3 - Analyse des objets isolés dans les différents plans : reconnaissance et classification.

La classification finale des plaquettes est obtenue en appliquant un certain nombre de règles prenant en compte toutes les classifications élémentaires obtenues dans chaque plan.

Comme première application de cette étude de faisabilité, 51 plaquettes ont été classées en 5 classes; dans cet exemple un même champ est observé sur six plans de netteté. Les cellules considérées sont celles qui apparaissent nettes sur au moins trois plans. Le taux de bonne reconnaissance est alors de 90%.

SUMMARY

Studies have shown a qualitative correlation between platelets morphology and their biological function [2]. Our study utilizes image processing techniques and feature recognition to automatically classify platelets among eight designated categories.

Our study has several purposes :

- First, we wish to establish a precise quantification of the morphology-function correlation (for transfusional purposes)
- If this correlation does indeed exist, this work could be used as the basis for design of a system for the routine control of transfusional products.
- In addition, this study could also allow us to quantify the morphological alterations of platelets that appear in some diseases.
- Finally, the methods that we have used for the image analysis of live cells moving in a liquid can be applied to other biological objects.

The observed objects are live cells (ie three-dimensional) which are moving in a liquid. For these reasons we cannot entirely determine their shape from a two-dimensional representation. Therefore most of the pictures utilized were obtained with an interferometric microscope which provide partial volumetric information (in a single direction). We have also attempted to simulate the human's observing procedure: tracking moving cells and focusing on different planes. The number of different planes can vary between 4 and 6.

The algorithm is therefore the following :

- 1- Segmentation of each focus plane of a given field to find the "interesting" objects.
- 2- Registration of the different planes by using the previous segmentations.
- 3- Analysis of the objects we have isolated in the different planes: recognition and classification.

The final classification is obtained by applying several rules that take into account all the elementary classifications in each plane. As an example of this feasibility study, 51 platelets were classified in 5 categories. They were processed only if they appeared on at least 3 different planes. In this case the correct classification ratio was 90%.

¹ actuellement à l'Université du Maryland, Center For Automation Research, dirigé par le Professeur A. Rosenfeld



I. INTRODUCTION

L'imagerie biomédicale est un domaine qui offre de nombreuses applications aux différents algorithmes de traitement et d'analyse d'images. Cependant, jusqu'à présent, les travaux menés sur les plaquettes concernent essentiellement leur volume et sont réalisés soit par des appareils de comptage de cellules en suspension, soit dans le cas de la reconnaissance des agrégats, par analyse d'images [3]. En effet, ce n'est que récemment que l'interprétation fonctionnelle de la morphologie des plaquettes a fait l'objet de recherches : une étude comparative microscopie optique - microscopie électronique a permis de mettre en évidence la corrélation entre la morphologie et la fonction des plaquettes sanguines, à l'état frais et après congélation, ceci qualitativement [1,2]. Le travail décrit ci-dessous utilise donc les résultats de cette étude, et a été réalisé principalement dans un but de contrôle des produits transfusionnels.

Les images traitées proviennent de deux types de microscopes optiques : microscope à contraste de phase et microscope à contraste interférentiel. Cependant la reconnaissance des plaquettes a surtout été développée à partir du contraste interférentiel dont le principe permet de restituer une partie de l'information volumique.

II. DONNEES DU PROBLEME

A. OBJECTIFS DE L'ETUDE

1. Conclusions de l'étude biologique préliminaire

Toute préparation de concentré plaquettaire peut être source d'altération. Il est donc utile de tester les plaquettes avant et après congélation ; on peut ainsi mesurer les changements apparus dans leurs morphologies et leurs fonctions biologiques. Un certain nombre de tests ont été proposés par G.Potron et P.Hervé [1] ; parmi ceux-ci le test morphologique est l'un des plus simples, des plus rapides et peut être utilisé en routine. Il consiste donc en la classification des plaquettes en neuf classes qui sont :

- (1) Lenticulaires (plaquettes de forme ovale)
- (2) Sphériques
- (3) Ballonisées (sphériques d'un diamètre supérieur)
- (4) Ovalaires avec pseudopodes
- (5) Sphériques avec pseudopodes
- (6) "Capping" (Sphériques dont la granulation est condensée en un seul endroit)
- (7) Vides (Sphériques sans granulation)
- (8) Agrégats
- (9) Artéfacts

Dans l'étude de faisabilité que nous avons réalisé, six classes seulement ont été reconnues, les plaquettes ballonisées et vides n'ayant pas été traitées.

2. Objectifs de cette étude de faisabilité

Réaliser cette classification de façon automatique présente trois intérêts distincts :

- Dans un premier temps, cette reconnaissance, pouvant s'effectuer rapidement et en routine sur un très grand nombre de cellules, permettrait d'établir quantitativement la corrélation entre la morphologie et la fonction biologique des plaquettes, établie par l'étude biologique.

- Dans un deuxième temps, si l'étude précédente mettait en évidence une bonne corrélation morphologie-fonction, cette classification automatique serait utilisable en routine pour contrôler les préparations plaquettaires dans les centres de transfusion sanguine.

- Enfin, cette technique pourrait également servir de base à une analyse quantitative des altérations pathologiques des plaquettes.

B. CHOIX DES IMAGES A ANALYSER

L'étude au microscope électronique est trop complexe pour être le support d'un contrôle en routine. Aussi dans tout ce qui suit nous ne nous intéresserons uniquement à l'observation des plaquettes au microscope optique. Les deux types de microscopes optiques utilisés dans cette application sont le microscope à contraste de phase classique et le microscope à contraste interférentiel. Les figures 1 et 2 nous montrent les images obtenues avec ces deux types de microscopes.

On pourra remarquer que les plaquettes observées au contraste de phase apparaissent entourées d'un halo très clair correspondant aux franges de diffraction, celles-ci pouvant dans certains cas rendre les contours incertains.

Dans le cas du contraste interférentiel, il n'y a pas de franges de diffraction. D'autre part, l'image de chaque cellule est formée de deux images distinctes décalées latéralement l'une par rapport à l'autre. L'image finale est alors obtenue en prenant la différence de ces deux images : c'est pourquoi l'objet est vu avec une partie claire et une partie foncée dont les intensités sont proportionnelles à la pente de l'objet dans cette direction. On acquiert ainsi une information sur le "relief" des cellules, ceci dans la direction du décalage latéral.

L'absence de franges de diffraction et cette information supplémentaire sur le volume des cellules font que nous avons surtout développé la reconnaissance des plaquettes à partir du microscope interférentiel, tout en travaillant sur les deux types d'images (puisque les deux types de microscopes sont utilisés dans les laboratoires étudiant les plaquettes sanguines). Cependant, il est à noter que l'information volumique fournie par ce dernier n'est que partielle, car limitée à une seule direction.

Pour éliminer, au moins partiellement, ce dernier inconvénient, nous avons essayé de restituer la démarche de l'observateur humain : observer les cellules en mouvement et faire la mise au point sur différents plans de netteté. Bien que n'évitant pas toute erreur de reconnaissance, cette méthode permet d'éliminer la plupart d'entre elles. La figure 3 montre un exemple de plaquette sphérique avec pseudopodes, observée sur six plans différents : on peut remarquer qu'entre chaque plan, non seulement il existe une différence dans la netteté de l'image mais de plus la cellule ayant tourné entre deux mises au point, les pseudopodes apparaissent plus nettement sur les deuxième et troisième plans que sur les autres.

III. ANALYSE DES IMAGES

A. DESCRIPTION GENERALE DE L'ALGORITHME

Pour les raisons citées précédemment, les résultats de classification donnés ultérieurement concernent essentiellement les images de microscopie interférentielle. Dans ce cas, la reconnaissance porte sur les classes 1,2,4,5,6 et 9 définies ci-dessus. De plus quelques essais en contraste de phase ont été réalisés sur la classe 8 des agrégats.

Le principe général de l'algorithme de classification suit alors un schéma relativement général en imagerie biomédicale :

(1) segmentation, c'est à dire recherche des objets "intéressants" dans le champ observé.

(2) analyse des objets ainsi isolés

(Ces deux étapes, segmentation et analyse, ont été étudiées sur les deux classes d'images microscopiques)

Dans notre cas, entre les deux étapes de segmentation et d'analyse, s'intercale l'étape intermédiaire de mise en correspondance. En effet, si plusieurs plans de netteté sont utilisés, une fois chaque plan segmenté, il est nécessaire de mettre en correspondance ces différentes segmentations pour savoir où se trouve une cellule donnée dans chacun des plans.

La démarche suivie sera donc :

- (1) segmentation de l'image en objets "intéressants"
- (2) mise en correspondance des différents plans
- (3) analyse des objets isolés dans les différents plans :
 - a/ extraction des paramètres caractéristiques
 - b/ classification élémentaire
- (4) classification finale des plaquettes en utilisant toutes les classifications élémentaires

B. SEGMENTATION DES IMAGES

La segmentation des images ainsi que l'algorithme de suivi de contours qui s'y rapporte sont décrits en détail en [4]. Deux méthodes différentes de segmentation ont été proposées pour l'analyse de ces images. Les deux méthodes fournissent la localisation de toutes les plaquettes présentes dans le champ observé par l'information de leurs rectangles d'encadrement. De plus, pour chaque cellule, la segmentation donne approximativement un point de départ et la longueur du contour qui seront utilisés dans l'étape (3) d'analyse des objets isolés.

Le principe de base des deux différentes segmentations proposées est une détection des contours. Les méthodes générales (gradients, laplaciens, ...) utilisées sans aucune autre information n'ayant pas donné de résultat satisfaisant, nous avons mis au point un algorithme de suivi de contours adapté au problème. Il consiste à suivre le contour en tournant autour de l'objet rencontré dans le sens trigonométrique. Le point d'entrée du contour étant déterminé soit par un balayage ligne par ligne, soit par une étape préliminaire. Tout nouveau point est choisi comme point frontière entre le fond et l'objet et doit être tel que l'amplitude du gradient est suffisamment élevée. Par son parcours des points de l'image, celui-ci s'apparente aux suivis décrits par Ledley [5] et Le Go [6] pour la reconnaissance des chromosomes. Cependant, il ajoute à l'information des niveaux de gris de l'image originale ou de l'image obtenue après égalisation d'histogramme, une information d'amplitude du gradient qui permet de choisir le "meilleur chemin" pour suivre le contour : en ce sens, il s'apparente aux algorithmes de recherche d'un chemin de coût optimal dans un graphe [7,8]. Plus simple que ces derniers, il est ainsi moins coûteux, mais en revanche s'il est parfaitement adapté au problème qui nous intéresse, il est d'une application moins générale que ces derniers. On pourra trouver une description complète de cet algorithme en [4] et [10].

Les deux méthodes de segmentation sont alors les suivantes :

a/ Segmentation 1

La segmentation 1 utilise l'idée de réduction de la résolution spatiale. L'algorithme consiste donc à appliquer le suivi de contours précédent sur les deux images réduites des amplitudes du gradient et du résultat de l'égalisation d'histogramme. Le point d'entrée initial du suivi est déterminé par un balayage ligne par ligne. Le premier objet est suivi : on obtient ainsi les informations de rectangle d'encadrement, de point d'entrée et de longueur approximatif de ce contour. Une fois ce premier objet traité, le balayage ligne par ligne est repris jusqu'au deuxième objet, ...

b/ Segmentation 2

La segmentation 2 est basée sur les idées de binarisation, érosion et dilatation de l'image des amplitudes d'un gradient [9]. Dans les exemples traités, elle est utilisée à haute résolution et le gradient employé est la méthode des 3-niveaux.

L'image des amplitudes est d'abord seuillée (seuil fixe) puis "érodée-dilatée", ce qui permet d'éliminer les bruits "poivre et sel" sans disconnecter les contours des cellules. Puis un suivi de contours du type précédent mais appliqué uniquement sur l'image binaire donne la localisation des objets à analyser ultérieurement avec les informations citées plus-haut.

Dans les deux cas, on ne considérera comme objets "intéressants" que ceux ayant été trouvés par la segmentation et vérifiant certains critères de niveaux de gris et de taille définis a priori.

Les figures 4 et 5 montrent les résultats de ces segmentations sur les deux types de microscopes.

C. MISE EN CORRESPONDANCE DES DIFFERENTS PLANS

Une fois les différents plans de netteté segmentés, le problème est de faire la mise en correspondance de toutes ces segmentations. En effet, les plaquettes ne sont pas immobiles d'un plan à l'autre :

- d'une part, elles peuvent tourner sur elles-mêmes.
- d'autre part, il existe un mouvement général de translation de la préparation dû à la force qu'exerce la lamelle sur le liquide contenant les plaquettes.

De plus, toute cellule qui devient floue ne vérifie plus les critères de niveaux de gris définis pour être reconnue comme objet "intéressant" ; elle disparaît donc de la segmentation. Mais si elle change de plan à la même vitesse que celle où sont faits les réglages de netteté, elle peut réapparaître dans une autre segmentation.

Il convient donc de prendre en compte ces différentes hypothèses pour mettre au point une mise en correspondance correcte des diverses segmentations. On voit que les cellules étant animées d'un mouvement de rotation, il sera impossible d'utiliser un critère de forme ou de taille pour les mettre en correspondance. D'autre part, le nombre et l'identité des cellules détectées dans chaque segmentation étant variable, il est impossible d'utiliser une méthode de corrélation globale. L'approche choisie dans ce cas appartient à la classe des techniques basées sur une similarité géométrique. Le problème revient alors :

- (1) dans une première étape, à trouver des couples de rectangles correspondants candidats.
- (2) la seconde étape est alors de trouver s'il existe une transformation géométrique admissible de l'ensemble des rectangles références sur l'ensemble des rectangles considérés de l'image courante.

Dans ce qui suit, les rectangles seront ramenés à des points et la transformation géométrique recherchée sera alors une translation mettant en correspondance deux ensembles de points (le mouvement de rotation des cellules sur elles-mêmes n'intervenant plus au niveau des "points").

La recherche du couple de points correspondants initial est basée sur l'idée suivante : les "structures géométriques" comme les triangles ou les quadrilatères, que l'on peut définir par des notions de distances ou d'orientations, et qui existent entre cellules proches, sont approximativement conservées d'un plan à l'autre. En particulier, les cellules isolées (c'est à dire n'ayant pas de voisines dans un voisinage circulaire de rayon fixé a priori), restent presque toutes isolées sur chacun des plans. Ce seront donc ces dernières, pour lesquelles la mise en correspondance peut se baser sur un critère de localisation qui seront utilisées comme couples de points correspondants candidats. L'algorithme est alors le suivant :



ETUDE DE FAISABILITE EN VUE D'UNE RECONNAISSANCE DE PLAQUETTES SANGUINES
Jacqueline LE MOIGNE
FEASABILITY STUDY FOR AUTOMATIC RECOGNITION OF BLOOD PLATELETS

- (1) A la segmentation, une fois tous les rectangles ("points") déterminés, on recherche ceux qui sont isolés.
- (2) Les points isolés ayant ainsi été déterminés dans chaque plan, on cherche donc entre deux images traitées les couples de points isolés correspondants.
- (3) Si l'une des deux images considérées ne contient pas de points isolés ou bien si aucune correspondance n'a été trouvée, par défaut, on prend comme translation admissible la translation définie par les centres de gravité respectifs de l'ensemble des points dans les deux images. Sinon, on prendra comme translation admissible, la translation moyenne définie par les couples correspondants déterminés en 2/

Par la méthode précédente, on peut mettre en correspondance deux images. Dans le cas de n images ($n > 2$), les images sont mises en correspondance deux à deux, par paire de plans consécutifs. On peut ainsi propager les correspondances pour chaque cellule. Cependant, si une cellule disparaît, elle doit rester en mémoire à l'état de "fantôme" pour pouvoir être mise en correspondance si besoin avec une cellule apparaissant sur un plan non consécutif à celui où elle est apparue en dernier. La figure 6 montre le résultat de la mise en correspondance sur un ensemble de six plans du même champ montré en figure 2.

D. RECONNAISSANCE DES PLAQUETTES SANGUINES

Nous sommes maintenant à l'étape finale où une plaquette est connue par les coordonnées de son rectangle d'encadrement dans les différents plans. La technique de reconnaissance suit alors le plan suivant :

- * dans un plan :
 - déterminer son contour dans l'image originale.
 - déterminer son contour dans l'image égalisée.
 - calculer un certain nombre de paramètres sur chacun de ces deux contours ainsi que des paramètres comparatifs.
 - en déduire la classification élémentaire de la plaquette sur ce plan.
- * globalement :
 - combiner toutes les classifications élémentaires par un certain nombre de règles et donner la classification finale de la cellule.

1. Détermination du contour dans l'image originale et l'image égalisée

Pour cette étape, c'est l'algorithme de suivi de contours décrit ci-dessus qui est utilisé. La segmentation donne un point d'entrée approximatif. On commence donc par chercher autour de ce point, le point le plus proche qui soit frontière du fond et de l'objet cherché et qui de plus ait un gradient suffisamment élevé. Puis le suivi est appliqué. L'information de longueur approximative du contour est utilisée soit pour compléter celui-ci quand le suivi est stoppé (par exemple parce que l'amplitude du gradient est insuffisante), soit pour s'arrêter quand le contour trouvé devient trop long.

La figure 7 montre un exemple de ces détectations de contours sur une plaquette lenticulaire observée au microscope à contraste de phase ; de même la figure 8 pour un agrégat de plaquettes : on voit donc que le contour extrait de l'image originale donne le (ou les) cellule(s) de base et celui obtenu par l'image égalisée donne la plaquette dans son intégralité. Si cette cellule n'a pas de pseudopodes ces deux contours seront

de forme identique. De plus le nombre de contours élémentaires permet de reconnaître les agrégats.

Dans le cas du contraste interférentiel, les objets étant formés d'une partie claire et d'une partie foncée, la détection de contours précédente est appliquée pour les deux parties composantes de chaque cellule. On ajoute ces deux contours. Puis pour chacune des parties, le centre de gravité est calculé. Les deux contours sont alors traduits l'un vers l'autre dans la direction de la droite joignant ces centres de gravité. Le contour final de la cellule est alors la bordure extérieure de l'union des traduits. La figure 9 résume sur un exemple ces étapes successives. La figure 10 montre ce traitement sur une plaquette sphérique avec pseudopodes.

2. Description des paramètres de classification

Sur chacun de ces deux contours peut être calculé un certain nombre de paramètres caractérisant la forme des plaquettes. Ce sont :

- Le périmètre
- La surface
- Les coordonnées du centre de gravité
- Le rayon maximal
- Le rayon minimal
- Une mesure de circularité : rapport du périmètre au carré sur la surface
- Une première mesure de l'élongation, rapport du rayon maximal sur le rayon minimal
- Une deuxième mesure de l'élongation, rapport de la surface sur le rayon minimal au carré

A tous ces paramètres viennent s'ajouter ceux qui permettent de comparer les deux contours obtenus :

- Distance des centres de gravité
- Différence ou rapport des périmètres
- Différence ou rapport des surfaces
- Différence ou rapport des élongations
- Une mesure de la circularité de la "différence" des deux contours

Les mesures de circularité et d'élongation permettent de discriminer les cellules sphériques des cellules lenticulaires. Les cinq mesures comparatives seront utiles pour la détermination des pseudopodes. La distance des centres de gravité peut aussi être utilisée pour la reconnaissance des "capping" ainsi que le paramètre défini de la façon suivante (en contraste interférentiel) : celui-ci est basé sur le fait que toute cellule en contraste interférentiel est formée d'une partie claire et d'une partie foncée. Dans le cas d'un capping, la granulation étant rassemblée en un seul endroit, les fonctions d'intensité présenteront un pic supplémentaire dans la direction perpendiculaire à celle de la répartition de la granulation. En calculant la fonction d'intensité sur quatre droites (verticale, horizontale et diagonales) passant par le centre de gravité de la cellule, on peut ainsi déterminer si sur au moins l'une de ces quatre directions la fonction d'intensité présente deux pics au lieu d'un, soit dans la partie positive, soit dans la partie négative, soit dans les deux. La figure 11 résume cette idée.

3. Classifications élémentaires des plaquettes

Dans le cas du contraste interférentiel, une analyse discriminante a permis de déterminer les paramètres caractérisant le mieux chaque classe [11]. Elle a été réalisée sur 19 cellules (considérées sur six plans différents) dont la classe était connue a priori. Les résultats ont montré que la variable la plus discriminante entre sphériques et lenticulaires est la mesure de circularité sur l'image égalisée. Ensuite dans l'ordre viennent les mesures d'élongation, de différence de périmètres, ... En ajoutant à ces résultats le critère discriminant les cellules en capping, on peut construire un arbre de décision permettant de classer les plaquettes sur chaque plan (pour plus de détails voir [10]).

ETUDE DE FAISABILITE EN VUE D'UNE RECONNAISSANCE DE PLAQUETTES SANGUINES
 Jacqueline LE MOIGNE
 FEASABILITY STUDY FOR AUTOMATIC RECOGNITION OF BLOOD PLATELETS

4. Classification finale des plaquettes

Une fois la plaquette classée sur chaque plan, la classification finale est réalisée en appliquant un certain nombre de règles prenant en compte toutes ces classifications élémentaires. Un exemple de l'une de ces règles est : " si la plaquette n'a jamais été ni lenticulaire ni ovale avec pseudopodes et est apparue au moins une fois sphérique (sans pseudopodes), la classification sera sphérique ".

IV. RESULTATS

Les résultats qui suivent ont été obtenus sur 61 cellules observées sur 2, 3, 4, 5 ou 6 plans (soit environ 250 cellules observées sur un seul plan) parmi lesquelles se trouvent les 19 cellules qui nous ont permis de construire l'arbre de classification. Le taux de reconnaissance est alors de 83 %.

Les erreurs proviennent surtout des plaquettes qui n'ont été classées que sur 2 plans. Si on ne les considère pas (on a donc dans ce cas 51 cellules à classer), on obtient alors un taux de reconnaissance de 90%.

V. CONCLUSION

Cette étude montre donc qu'il est possible de classer automatiquement les plaquettes. Les résultats pourraient être améliorés en utilisant un plus grand nombre de cellules pour l'ensemble d'apprentissage. D'autre part, il serait intéressant de classer les cellules ballonnées, les vides, ainsi que d'autres classes comme les plaquettes déshydratées, étalées, par exemple.

L'intérêt de ce travail réside principalement dans les deux points suivants :

- 1- Le traitement des images de microscopie interférentielle.
- 2- L'utilisation de plusieurs plans de netteté permettant de retrouver une partie de la troisième dimension des cellules.

La suite de ce travail consisterait en une étude systématique d'un plus grand nombre de classes de plaquettes. D'autre part, il serait intéressant d'appliquer ce type d'analyse d'images à d'autres objets biologiques observés en contraste interférentiel ou en microscopie électronique à balayage.

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma très vive gratitude à monsieur le Professeur G.POTRON directeur du laboratoire d'hématologie du CHR de Reims ainsi qu' à toute son équipe pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail et pour l'aide et le soutien qu'ils m'ont accordés durant cette étude.

Tous mes remerciements vont également à l'INRIA et en particulier à O.D.FAUGERAS et à son équipe pour m'avoir permis de réaliser ce travail.

Je tiens aussi à remercier le Professeur A.ROSENFELD et le Center For Automation Research qui m'ont donné les moyens techniques de produire cet article.

BIBLIOGRAPHIE

(1) G.POTRON - P.HERVE, " Conservation des plaquettes par congélation ", (Revue française de transfusion et immuno-hématologie, Tome XXV, no 1, 1982)

(2) G.POTRON - J.C.ADJIZIAN - J.AHR, " Platelets morphological studies (phase contrast and electronic microscope) : transfusional interest ", Colloque Franco-Soviétique de Biologie et Pathologie Cellulaire, à paraître

(3) R.E.DAYOFF - R.S.LEDLEY - J.A.ZELLER - C.M.PARK - M.R.SHIU, " Platelet agregation studies using TEXAC whole picture analysis ", Proc. of the 2-nd annual symposium on computer applications in medical care, Nov.1978, Washington, (31-36)

(4) J.F.ABRAMATIC - J.LE MOIGNE, "Edge detection for blood platelets classification ", proc. of the CVRR'83, Washington D.C., June 1983

(5) R.S.LEDLEY - L.S.ROTOLO - T.J.GOLAB - J.D.JACOBSEN - M.D.GINSBERG - J.B.WILSON, " FIDAC : Film Input to Digital Automatic Computer and associated syntax - directed pattern recognition programming system ", Optical and electro-optical information processing, MIT Press 1965, ch.33 (591-612)

(6) R.J.P.LE GO, " Système d'analyse d'images cytologiques et chromosomiques par calculateur numérique "

(7) A.MARTELLI, " Edge detection using heuristic search methods ", Computer Graphics and Image Processing, 1972, 1, (169-182)

(8) G.P.ASHKAR - J.W.MODESTINO, " The contour extraction problem with biomedical applications ", IEEE on PR and IP, New-York June 6-8, 1977 (216-224)

(9) J.SERRA, " Quantitative image transformations in cytology ", Rapport interne du Centre de Morphologie Mathématique de Fontainebleau, Février 1980

(10) J.LE MOIGNE, " Reconnaissance automatique de plaquettes sanguines ", Thèse de 3-ème cycle présentée à l'Université P.et M. Curie le 21 Mars 1983

(11) G.CELEUX - Y.LECHEVALLIER, " Méthodes de discrimination non paramétrique asymptotiquement efficaces au sens de Bayes ", rapport de recherche INRIA, no 52, Décembre 1980

Les légendes des figures composées de 4 images suivent toutes le même schéma :

2 1

4 3

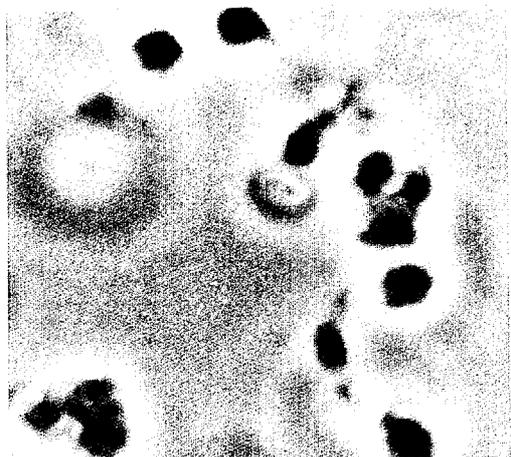


Figure 1
 Plaquettes observées au contraste de phase



ETUDE DE FAISABILITE EN VUE D'UNE RECONNAISSANCE DE PLAQUETTES SANGUINES
 Jacqueline LE MOIGNE
FEASIBILITY STUDY FOR AUTOMATIC RECOGNITION OF BLOOD PLATELETS

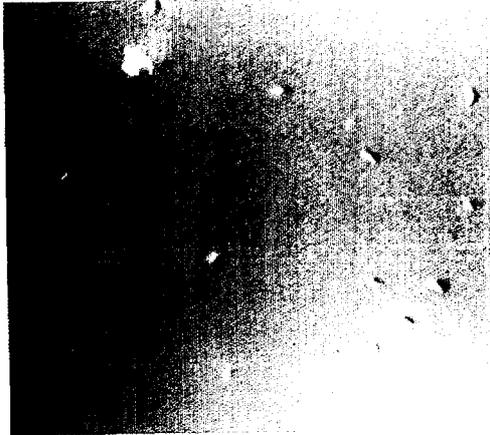


Figure 2
 Plaquettes observées au contraste interférentiel

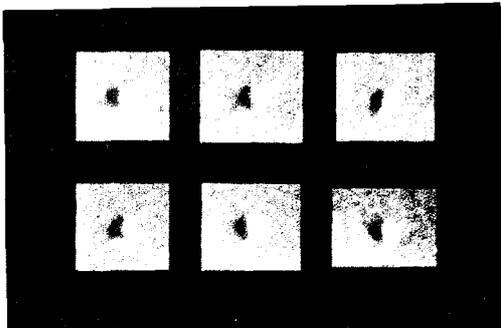


Figure 3
 Six plans d'une cellule lenticulaire
 en contraste interférentiel

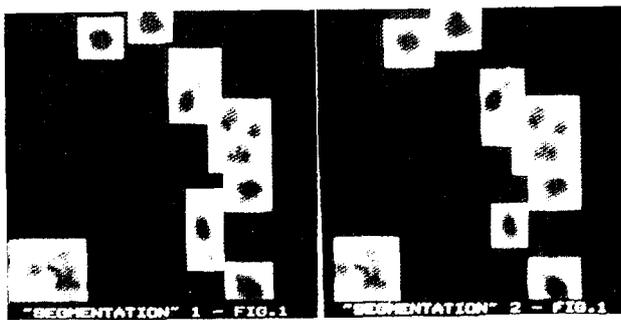


Figure 4
 Contraste de phase : résultats de segmentation

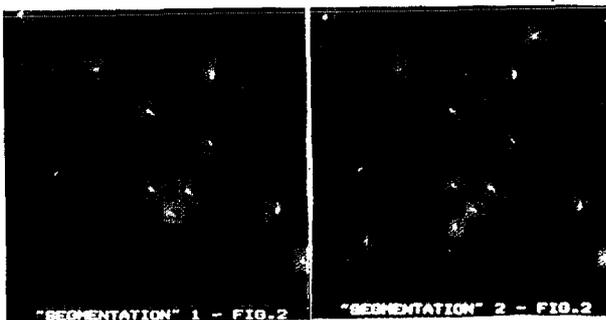


Figure 5
 Contraste interférentiel : résultats de segmentation

NUMERE TOTAL DE CELLULES A TRAITER : 19

1-EME CELLULE :		
NUMERO	1 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	1 DANS LA	2-EME IMAGE
NUMERO	1 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	1 DANS LA	4-EME IMAGE
NUMERO	2 DANS LA	5-EME IMAGE
NUMERO	1 DANS LA	6-EME IMAGE
2-EME CELLULE :		
NUMERO	2 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	2 DANS LA	2-EME IMAGE
NUMERO	2 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	2 DANS LA	4-EME IMAGE
NUMERO	3 DANS LA	5-EME IMAGE
NUMERO	2 DANS LA	6-EME IMAGE
3-EME CELLULE :		
NUMERO	3 DANS LA	1-EME IMAGE
4-EME CELLULE :		
NUMERO	4 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	3 DANS LA	2-EME IMAGE
NUMERO	3 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	3 DANS LA	4-EME IMAGE
5-EME CELLULE :		
NUMERO	5 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	4 DANS LA	2-EME IMAGE
NUMERO	4 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	4 DANS LA	4-EME IMAGE
NUMERO	4 DANS LA	5-EME IMAGE
6-EME CELLULE :		
NUMERO	6 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	5 DANS LA	2-EME IMAGE
NUMERO	6 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	5 DANS LA	4-EME IMAGE
NUMERO	3 DANS LA	5-EME IMAGE
7-EME CELLULE :		
NUMERO	7 DANS LA	1-EME IMAGE
8-EME CELLULE :		
NUMERO	8 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	8 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	8 DANS LA	4-EME IMAGE
NUMERO	7 DANS LA	5-EME IMAGE
9-EME CELLULE :		
NUMERO	9 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	7 DANS LA	2-EME IMAGE
NUMERO	10 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	10 DANS LA	4-EME IMAGE
NUMERO	8 DANS LA	5-EME IMAGE
NUMERO	5 DANS LA	6-EME IMAGE
10-EME CELLULE :		
NUMERO	10 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	6 DANS LA	2-EME IMAGE
NUMERO	9 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	9 DANS LA	4-EME IMAGE
11-EME CELLULE :		
NUMERO	11 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	8 DANS LA	2-EME IMAGE
NUMERO	11 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	11 DANS LA	4-EME IMAGE
NUMERO	10 DANS LA	5-EME IMAGE
NUMERO	6 DANS LA	6-EME IMAGE
12-EME CELLULE :		
NUMERO	12 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	9 DANS LA	2-EME IMAGE
NUMERO	12 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	9 DANS LA	5-EME IMAGE
13-EME CELLULE :		
NUMERO	13 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	10 DANS LA	2-EME IMAGE
NUMERO	13 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	12 DANS LA	4-EME IMAGE
NUMERO	11 DANS LA	5-EME IMAGE
NUMERO	7 DANS LA	6-EME IMAGE
14-EME CELLULE :		
NUMERO	14 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	11 DANS LA	2-EME IMAGE
NUMERO	13 DANS LA	5-EME IMAGE
15-EME CELLULE :		
NUMERO	15 DANS LA	1-EME IMAGE
NUMERO	12 DANS LA	2-EME IMAGE
NUMERO	14 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	13 DANS LA	4-EME IMAGE
NUMERO	12 DANS LA	5-EME IMAGE
16-EME CELLULE :		
NUMERO	5 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	5 DANS LA	4-EME IMAGE
17-EME CELLULE :		
NUMERO	7 DANS LA	3-EME IMAGE
NUMERO	7 DANS LA	4-EME IMAGE
NUMERO	6 DANS LA	5-EME IMAGE
NUMERO	4 DANS LA	6-EME IMAGE
18-EME CELLULE :		
NUMERO	6 DANS LA	4-EME IMAGE
19-EME CELLULE :		
NUMERO	1 DANS LA	5-EME IMAGE

Figure 6
 Résultats de mise en correspondance sur six
 plans différents du champ observé sur la
 figure 1

ETUDE DE FAISABLITE EN VUE D'UNE RECONNAISSANCE DE PLAQUETTES SANGUINES
 Jacqueline LE MOIGNE
 FEASIBILITY STUDY FOR AUTOMATIC RECOGNITION OF BLOOD PLATELETS

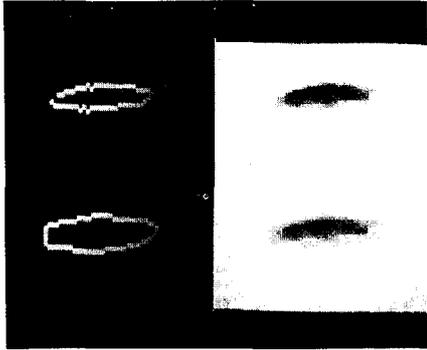


Figure 7
 Contraste de phase : Détection de contours sur une plaquette lenticulaire
 1/ image originale
 2/ contours extraits de l'image originale
 3/ image égalisée
 4/ contours extraits de l'image égalisée

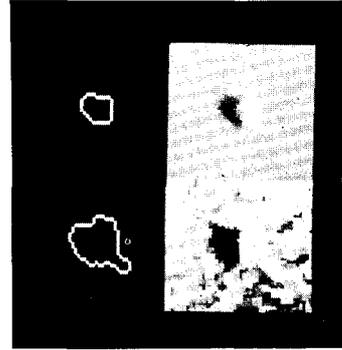


Figure 10
 Contraste interférentiel : Détection de contours sur une plaquette sphérique avec pseudopodes
 1/ image originale
 2/ contours extraits de l'image originale
 3/ image égalisée
 4/ contours extraits de l'image égalisée

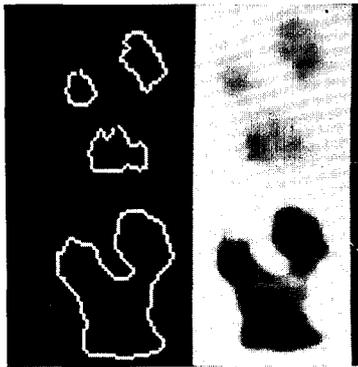


Figure 8
 Contraste de phase : Détection de contours sur un agrégat de plaquettes
 1/ image originale
 2/ contours extraits de l'image originale
 3/ image égalisée
 4/ contours extraits de l'image égalisée

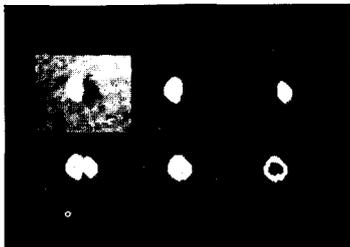


Figure 9
 Contraste interférentiel : Différentes étapes de la détection de contours
 1 2 3

- 4 5 6
 1/ image originale
 2/ détection partie claire
 3/ détection partie foncée
 4/ somme de ces deux contours
 5/ translation dans la direction définie par les centres de gravité
 6/ contour final de la plaquette

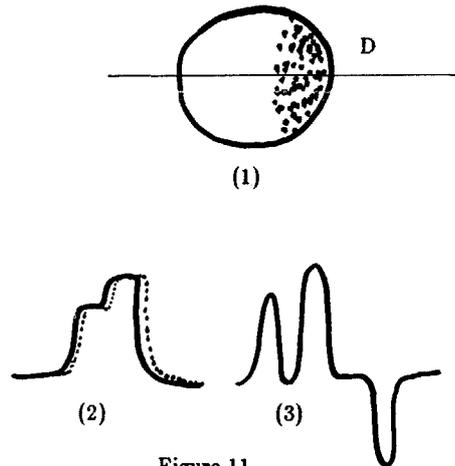


Figure 11
 Description du paramètre spécifique aux capping
 1/ image originale d'une cellule en capping
 2/ fonction d'intensité le long de la droite D pour une des images de l'objet
 3/ différence des deux fonctions d'intensité correspondant aux deux images décalées latéralement