



COMPARAISON DE TRAITEMENTS BAS NIVEAU CONDUISANT  
A UNE METHODE ROBUSTE DE SEGMENTATION D'IMAGES EN  
HISTOLOGIE.

M. SMADJA (Roussel - Uclaf)  
J. DEVARIS, M. LECLERC (ENSEA, ETIS)

Service d'Histologie. Roussel - Uclaf 102 Route de Noisy. 93100 Romaiville. France.

ENSEA - ETIS Allée des chênes pourpres. 95014 Cergy pontoise Cedex. France.

RÉSUMÉ

**Résumé.** Une méthode complète de segmentation par les contours et de description des régions circonscrites sur des images de coupes histologiques est décrite. La méthode proposée procède en trois phases : amélioration d'image, extraction des régions, classification de ces régions. Pour les deux premières phases, différents traitements ont été comparés et adaptés en fonction des caractéristiques des images obtenues en histologie.

ABSTRACT

**Abstract.** This paper presents a complete method of contour extraction followed by a description of circumscribed regions, on images of histological slides. This method proceeds in three stages : image enhancement, region extraction, and classification of these regions. In the two first stages, different operators are tested and adapted according to the characterization of images obtained in histology.

1. INTRODUCTION

L'histologie étudie des coupes de tissus colorées. Ces tissus présentent une très grande diversité d'aspects. Leur coloration est choisie pour mettre en évidence les zones d'intérêt. De ce fait, dans un grand nombre de cas, l'image analysée donne des zones d'intérêt de niveaux de gris homogènes ayant un bon contraste. Nous proposons, pour les images se situant dans ce cadre, une méthode complète de segmentation par les contours et de description des régions délimitées. Les problèmes principaux que présentent ces images, d'un point de vue segmentation, sont de 3 types :

- le bruit dominant, dû aux sous-structures biologiques du tissu, est granulaire (quelques pixels de diamètre),
- les transitions sont douces (de 3 à 10 pixels),
- la coupe crée des déchirements et des étalements rendant le positionnement des frontières difficilement définissable.

La méthode utilise les trois phases classiques : amélioration d'images, extraction des régions, classification de ces régions.

Pour l'illustrer, nous présentons les contours extraits sur des images de coupes :

- de travées osseuses (Image 1), structure interne de l'os (tibia de rat)
- d'artères (Image 2), recherche des lames élastiques (aorte de rat)



Image 1: Coupe de travée osseuse

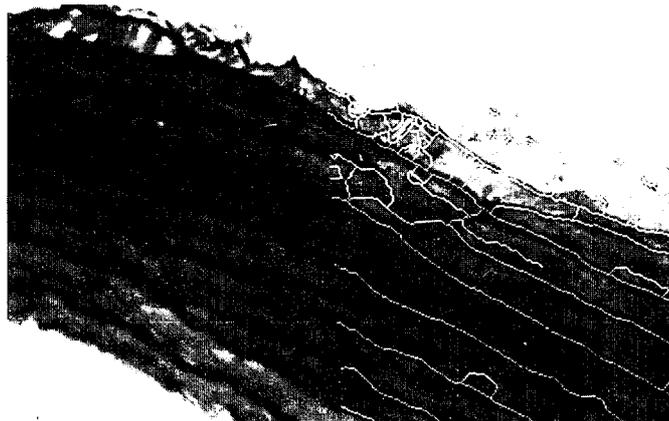


Image 2: Coupe d'artère



## 2. AMELIORATION D'IMAGES

L'amélioration d'images représente une phase essentielle avant la segmentation. Cette phase comprend une transformation, optionnelle, des niveaux de gris, suivie d'un filtrage. La première étape, réalisée par l'intermédiaire d'une LUT, permet soit une amélioration du contraste, soit de transformer une image couleur en image monochrome selon un axe de contraste maximum. Le filtrage effectue 2 fonctions antagonistes :

- lisser les zones homogènes,
- améliorer les transitions.

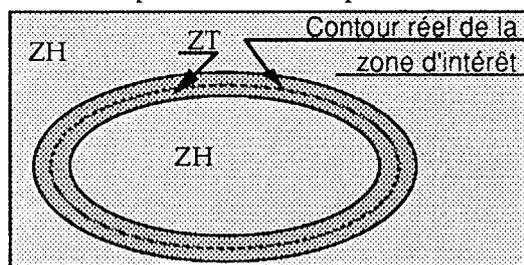
### 2.1 Mode de test

Afin de choisir le filtre réalisant au mieux ces deux fonctions sur notre type d'image, 3 séries de tests ont été réalisées :

La première série de tests s'effectue sur des images de synthèse. La simulation va porter sur 2 perturbations, testées de manière indépendante : soit des transitions douces, soit un bruit gaussien et granulaire. Pour chaque test, un couple d'images de synthèse est réalisé. L'une est une image de référence que l'on désire restituer avec un filtre parfait, l'autre représente l'image de référence à laquelle est rajoutée la perturbation testée. Le premier test porte sur le filtrage du bruit. Le second test porte sur l'amélioration des transitions dans le cas de régions larges en regard de la largeur des transitions. Le troisième test associe le filtrage du bruit et l'amélioration des transitions. Le quatrième test porte sur l'amélioration des transitions dans le cas d'éléments linéiques (région d'intérêt de largeur 2 ou 3 pixels).

La performance d'un filtre est quantifiée par le calcul de l'écart quadratique moyen entre l'image filtrée et l'image de référence associée.

La seconde série de tests s'effectue sur des images réelles. Le lissage des zones homogènes et l'amélioration des transitions vont être testés séparément. Afin de séparer ces 2 effets, 2 masques sont créés : l'un correspond aux zones de transition (ZT), l'autre aux zones homogènes (ZH). Le masque ZT s'obtient par dilatation, de 1 pixel, du tracé manuel de tous les contours. Le masque ZH est le complément de ZT.



La quantification de ces 2 aspects est faite par calcul du gradient de l'image filtrée. Pour chaque image de test et chaque filtre, 2 mesures sont effectuées :

- la valeur moyenne du gradient dans la zone ZT,
- la valeur moyenne du gradient dans la zone ZH.

Les valeurs de référence sont obtenues selon le même principe, sans opération de filtrage. Les performances d'un filtre,  $f1$ , sont quantifiées par 3 coefficients (à 100% sans filtrage):

$Ct(f1) = MG(f1(Im)) / MG(Im)$  : conservation des transitions  
 $Ch(f1) = MCh(f1(Im)) / MCh(Im)$  : lissage des zones homogènes  
 $CR(f1) = Ct(f1) / Ch(f1)$  : contraste relatif

avec :  $MG(Im)$  = valeurs moyennes du gradient de l'image  $Im$  dans la zone  $Zt$ .

$MCh(Im)$  = valeurs moyennes du gradient de l'image  $Im$  dans la zone  $Zh$ .

$f1(Im)$  = image résultant du filtrage de  $Im$  par  $f1$ .

La troisième série de tests est qualitative. Une analyse visuelle des images filtrées est effectuée. Des profils de lignes complète cet examen.

### 2.2 Filtres testés

- filtre gaussien [1] 5x5 et 9x9,
- filtre médian [2] 5x5 et 9x9,
- filtre sigma [6] 5x5 et 9x9,
- filtre Nagao [9] 5x5,
- filtre Nagao-m9, ce filtre introduit trois modifications par rapport au filtre Nagao :
  - tous les domaines sont identiques (5x5)
  - la variance est remplacée par l'étendu,
  - la taille du voisinage étudiée est 9x9.
- filtre linéique 7x7. Ce filtre analyse la surface formée par les niveaux de gris. Lorsque la surface correspond à une ligne de crête, le point est affecté avec le niveau de gris moyen de la zone centrale, sinon la moyenne des niveaux de gris de l'ensemble de la fenêtre est choisie.

### 2.3 Résultats

Les tableaux tab1 et tab2 donne l'ensemble des résultats quantitatifs. Le test qualitatif confirme les résultats des 2 autres tests.

Image de synthèse : Image brut	Im. 1 11,4	Im. 2 5,2	Im. 3 12,6	Im. 4 11,4
Filtre <b>Gaussien 5x5</b>	6,1	5,3	8,2	9,5
Filtre <b>Gaussien 9x9</b>	4,9	5,7	7,5	10,2
Filtre <b>Sigma 5x5</b>	8,5	5,3	10,1	10
Filtre <b>Sigma 9x9</b>	8,1	5,3	9,9	9,5
Filtre <b>Médian 5x5</b>	4,9	5,2	7,3	9,5
Filtre <b>Médian 9x9</b>	2,7	5,4	6,8	11,6
Filtre <b>Nagao</b>	6,9	4,6	8,9	11,8
Filtre <b>Nagao-m9</b>	2,8	4,1	6,7	11,6
Filtre <b>Linéique 7x7</b>	5,5	5	7,6	7,3

Tab1 : Ecart quadratique moyen sur image de synthèse.

Dans un souci de compacité des résultats, une seule taille de filtre est testée pour chaque type de filtre. La taille choisie est, pour les images de type région, 9x9, et pour celles de type ligne 5x5, excepté pour les filtres Nagao-m9 et linéique qui sont de taille fixe.

Type d'image	région			ligne		
	Ct	Ch	CR	Ct	Ch	CR
Filtre <b>Gaussien</b>	56	43	130	38	48	79
Filtre <b>Sigma</b>	91	51	178	38	32	119
Filtre <b>Médian</b>	61	29	210	23	32	72
Filtre <b>Nagao-m9</b>	114	51	224	77	56	138
Filtre <b>Linéique</b>	111	61	166	138	52	265

Tab2 : test quantitatif sur images réelles.

Le filtre Nagao\_m9 donne des résultats similaires au filtre médian 9x9 sur l'image de bruit, par contre, sur les transitions douces, il améliore nettement les résultats. Les résultats de l'image de synthèse 3 et des images réelles confirment cet aspect. Sur les éléments linéiques, que se soit sur l'image de synthèse 4 où l'image réelle, le filtre linéique donne nettement les meilleurs résultats.

### 3. EXTRACTION DES REGIONS

L'extraction des régions s'effectue par une détection des contours, suivie d'une fermeture de ceux-ci.

#### 3.1 Extraction de contours

Les opérateurs d'extraction de contours se basent soit sur des méthodes de masques adaptés (comparaisons du voisinage avec un dictionnaire de contours normalisés), soit sur des méthodes dérivatives.

##### 3.1.1 Masques adaptés

Le principe de la détection de frontière par masques adaptés, repose sur l'adaptation d'un gabarit dont la forme est fonction de l'objet recherché. Le motif est idéalement constitué de plages de niveaux de gris constants. Les valeurs des masques sont fixées en fonction de la forme et du motif, le nombre est fonction de la précision demandée sur les angles [5]. Deux types de gabarit sont étudiés, l'un pour les échelons de niveaux de gris, l'autre pour un cas particulier où l'élément d'intérêt est fin (typiquement 2-3 pixels de large). Le motif sera constitué de deux domaines dans le premier cas et de trois domaines dans le second.

##### 3.1.2 Méthodes dérivatives

Les méthodes dérivatives utilisent soit la dérivée première (gradient) en recherchant le maximum, soit la dérivée seconde (laplacien) en recherchant le passage par zéro. Les contours obtenus après un filtre gradient sont généralement épais, interrompus et délocalisés. Par contre, après un filtre laplacien, le contour est souvent fermé, bien localisé mais beaucoup plus sensible aux bruits. Les images histologiques sont composées d'une multitude de structures de tailles et de significations différentes. La coloration des coupes permet, en général, de renforcer le contraste. Le choix des contours est fonction de leurs contrastes. Le filtre gradient semble le mieux adapté car il permet de sélectionner les contours sur leur contraste. La recherche de lignes de crête [10] sur le contour obtenu permet de pallier le problème des contours épais. La délocalisation des frontières n'est pas un problème gênant, la frontière n'est définie qu'à quelques pixels près sur les transitions douces. Compte tenu des transitions nettes obtenues après filtrage, un filtre gradient relativement rudimentaire suffit. Nous utiliserons un filtre calculant les valeurs horizontales et verticales de la dérivée  $G_x$  et  $G_y$ . La norme du gradient se définit comme suit :  $\sqrt{(\partial f/\partial x)^2 + (\partial f/\partial y)^2}$

##### 3.1.3 Comparaison des opérateurs

L'extraction du gradient a été comparée à la méthode des masques adaptés définie précédemment. Le résultat est sensiblement le même pour les deux méthodes. Cette similarité des résultats est principalement due à la bonne qualité des fronts obtenus par filtrage de Nagao. Compte tenu du temps de calcul nettement plus important par la méthode des masques adaptés, nous utilisons un filtre gradient pour l'extraction des contours.

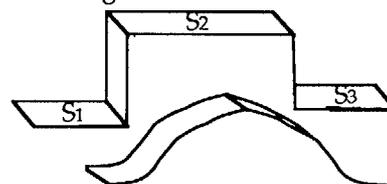
#### 3.2 Extraction de lignes

Lorsque les éléments d'intérêt sont étroits (typiquement 1 à 4 pixels), d'autres méthodes plus spécifiques ont été développées. La littérature offre différentes techniques d'extraction d'éléments fins :

- filtre gradient associé à un opérateur de recherche d'antiparallèle. Le filtre gradient génère deux contours de part et d'autre de l'élément d'intérêt.

L'association de lignes de contour parallèles ayant des transitions inversées [11] permet d'extraire les contours de structures fines par rapport aux contours d'autres éléments.

- transformation chapeau haut-de-forme. basée sur la morphologie mathématique qui analyse les objets par transformation ensembliste [3].
- extraction de ligne de crête. Une ligne claire (inversement pour une ligne sombre) peut s'interpréter comme une ligne de crête au sens géographique du terme [1]. On définit une fonction qui, pour chaque pixel, est proportionnelle au dénivelé sur les flancs et inversement au dénivelé le long des lignes de crête.
- technique des masques adaptés explicitée plus haut. Utilisation d'un gabarit à trois domaines.



##### 3.2.1 Comparaison des opérateurs

Le test entre ces différentes méthodes est basé sur l'analyse des profils de lignes et des images segmentées.

L'utilisation du gradient pour l'extraction de lignes permet de positionner précisément les frontières des lignes. Par contre, il reste sensible aux bruits principalement granulaire, et crée de nombreuses sur-détections. L'opérateur de recherche d'antiparallèle ne permet pas une bonne sélection des bordures des éléments d'intérêt, ceci étant principalement dû aux bruits granulaires.

L'usage du chapeau haut-de-forme donne de bons résultats lorsque le contraste de part et d'autre est correct, mais s'il est faible d'un côté, les résultats se détériorent nettement. L'amplitude résultante est liée au plus faible contraste de part et d'autre de la ligne. De plus, il est sensible aux bruits granulaires créant des segments de quelques pixels.

L'opérateur de crête, s'il résout les problèmes précédents, reste très sensible aux variations du niveau de gris du fond et le long de la ligne.

L'opérateur de masque adapté donne de loin les meilleurs résultats. Ce filtre est très sensible à toutes les structures linéaires de l'image. Ce qui permet, avec un seuil très bas, d'extraire des détails de faible contraste. S'il est nécessaire d'avoir les frontières exactes des lignes, cet opérateur devra coopérer avec un filtre gradient.

#### 3.3 Seuillage automatique

L'opération d'extraction de contours ou de lignes est suivie d'un opérateur de recherche de ligne de crête, lui même suivie d'une opération de seuillage. Le choix du seuil est délicat. Si le seuil est choisi bas, on aura une sur-détection, toutes les structures de l'image vont créer des contours, et si le seuil est trop haut, il y aura une forte perte d'information. L'image est composée de structures artéfactuelles pouvant avoir un bon contraste. De plus, les zones d'intérêt peuvent avoir un gradient faible, soit si le colorant a mal diffusé, soit si la zone de contour est en fort dégradé.

Une amélioration consiste à effectuer un seuillage par hystérésis. On sélectionne les éléments de contour ayant une valeur supérieure au seuil haut (éléments sûrs), ainsi que ceux, compris entre le seuil haut et le seuil bas (contours possibles), connexes à une extrémité



d'éléments sûrs. Ce type de seuillage offre, une plus grande tolérance dans le choix des seuils. Il peut être envisagé de manière automatique en fonction : du contraste de l'image, du nombre de contours de zones d'intérêt, du niveau de bruit et de la dynamique de l'image.

### 3.4 Fermeture de contours

Malgré le seuillage par hystérésis, il n'est pas possible d'avoir systématiquement des contours fermés. Les lacunes entre segments de contour sont des zones où le gradient est faible. De ce fait, des techniques de fermeture de contours n'utilisant pas le gradient ont été développées. Leurs principes se basent sur des critères géométriques. La fermeture entre les points extrêmes se fait par une droite ou un segment de courbe. Ces méthodes sont bien adaptées pour le contour d'objets ayant des formes géométriques.

L'étude des zones de coupures montre qu'il s'agit souvent de zones de transition douce, ou comportant un bruit granulaire sur la zone de transition. Ces zones ont souvent un contour irrégulier. Seul le gradient permet de trouver le contour le plus proche de la réalité. Une méthode proposée par Deriche [4] utilise le gradient pour guider la fermeture. A chaque point extrême du contour, le chemin de gradient le plus élevé est recherché. La topologie de chaque point extrême permet de définir une direction d'exploration.

### 3.5 Contrôle de fermeture

L'automate de fermeture ne permet cependant pas, dans tous les cas, de fermer les contours. Lorsque les transitions sont en forts dégradés, en cas d'absence des objets sur une certaine distance, l'automate part sur une fausse piste, principalement guidé par le bruit. Dans ce cas, un opérateur a été développé pour assurer le contrôle des régions douteuses et leurs fermetures. L'opérateur se base sur la recherche de points-selle [7], ainsi que sur l'analyse de l'axe médian [8] (squelette de l'inverse des contours). Celui-ci est valué selon la méthode de l'érodé ultime [3]. L'axe médian est parcouru à partir d'une de ses extrémités, en analysant la distance au contour, ainsi que la valeur des niveaux de gris dans l'image de départ. Un tableau est créé dans lequel sont mémorisées les caractéristiques des 15 derniers points rencontrés (coordonnées X-Y, valeurs de l'image en niveau de gris, distance aux contours). La fermeture procède en deux temps :

- détection d'une zone de fermeture,
- analyse dans cette zone du point de fermeture.

La recherche diffère suivant qu'il s'agit d'une fermeture d'élément linéaire ou de région. Dans le cas de fermeture de région, la zone de fermeture est détectée lorsque la variation des niveaux de gris sur une distance de 15 pixels est supérieure à un seuil. Le point de fermeture est celui dont le gradient est maximum. Dans la fermeture d'éléments linéaires, les points-selle sont recherchés. La zone de fermeture (de 10 pixels de large) se situe de part et d'autre de ce point. Le point de fermeture est celui de niveau de gris extrême. La fermeture part de ces points, de manière normale à la ligne médiane, et suit le chemin de plus courte longueur. La ligne de fermeture n'est pas optimale mais les zones à fermer étant rares et de courte distance, l'erreur introduite est faible, surtout par rapport aux erreurs de quantification inhérentes à l'échantillonnage biologique, ou aux artefacts de préparation.

## 4. CLASSIFICATION DES REGIONS

La phase de classification nécessite une connaissance de haut niveau, spécifique à chaque application. Afin de garder un aspect général à la méthode, nous la limiterons à la création du graphe d'adjacence. Afin de pouvoir identifier chaque région, une phase d'étiquetage est effectuée préalablement. Le mode de création de graphe utilisé s'appuie sur la méthode développée par Deriche [4]. Le graphe créé permet une description des différentes régions de l'image sous forme symbolique. Il fournit pour chaque région les informations suivantes :

- niveau de gris moyen
  - écart type des niveaux de gris
  - surface
  - périmètre
  - centre de gravité
  - direction du 1er moment d'inertie
  - dimension du meilleur rectangle approximant
- ainsi qu'une liste des voisins avec, pour chacun d'eux :
- son identificateur
  - sa longueur de contact
  - la valeur moyenne du gradient le long de cette zone de contact.

## 5. CONCLUSION

Cette méthode testée sur différents types d'images a permis, dans tous les cas, d'obtenir un ensemble de régions fermées, ainsi que le graphe d'adjacence associé. La méthode fournit toutes les données permettant à un système de connaissance haut niveau d'obtenir une segmentation et une classification correcte.

## 6. BIBLIOGRAPHIE

- (1) - Awajan A., Rondot D., Mignot J., Agache P. (1989) Détection et quantification des plis principaux et secondaires de la peau par traitement et analyse d'images vidéo. ITBM, 10, 53-67
- (2) - Bovik C.A., Huang T.S., Munson D.C. (1987). The effect of median filtering on edge estimation and detection. IEEE PAMI, 9-2, 181-194
- (3) - Coster M., Chermant J.L. (1985). Précis d'analyse d'images. Ed C.N.R.S.
- (4) - Deriche R., Cocquerez J.P. (1987). Extraction de composantes connexes basée sur une détection optimale des contours. MARI, Paris,
- (5) - Devars J. (1984). Traitement numérique des images : conception d'un langage de traitement d'images, application à l'extraction de primitives dans les vues aériennes. Thèse Docteur ès sciences. Université Paris Sud
- (6) - Lee J.S. (1983), Digital image smoothing and the sigma filter. CVGIP, 24, 255-269.
- (7) - Milgram M., Cocquerez J.P. (1986). Fermeture de contour par un opérateur local. Traitement du signal, 3-6, 303-311.
- (8) - Montanvert A. (1986). Medial line: Graph representation and shape description. IEEE 430-432.
- (9) - Nagao M., Matsuyama T. (1979). Edge preserving smoothing. C.G.I.P. 9, 394-407.
- (10) - Nevatia R., Babu K.R. (1980). Linear feature extraction and description. C.G.I.P. 13, 257-269.
- (11) - Scher A., Shneier M., Rosenfeld A. (1982). A method for finding pairs of antiparallel straight lines. IEEE P.A.M.I. 4, 3, may, 316-323.