



VALIDATION DU TRI CELLULAIRE
INFORMATISÉ
EN CYTOPATHOLOGIE TUMORALE
BILAN 2010-2011



Acteurs du programme de recherche Valtricyt

- **CHPC Cherbourg-Octeville**
 - Dr H. Elie – M. Lécluse
- **GREYC Université de Caen**
 - Pr A. Elmoataz – Pr O. Lézoray – D. Matte

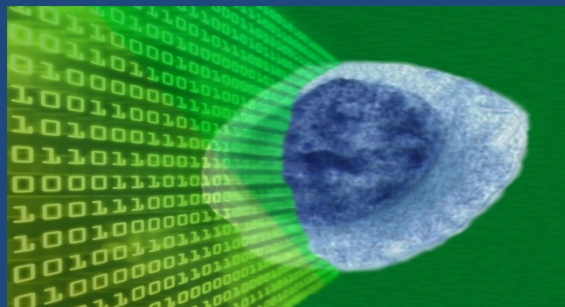


Les enjeux et retombées sur le Cotentin

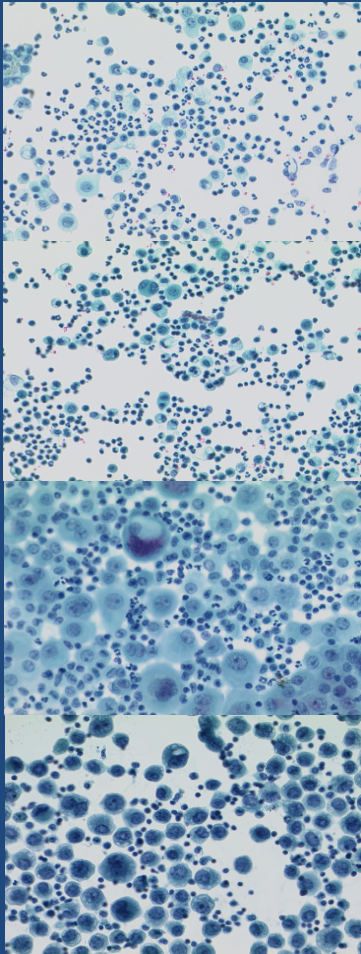
- Les enjeux en terme de santé et d'économie de santé.
- La valorisation et les ouvertures technologiques.
- Promotion des recherches initiées à Cherbourg-Octeville.
- Promotion du CHPC de Cherbourg-Octeville.

Plan

- Analyse d'images et tri cellulaire informatisé
 - Cytopathologie des séreuses
 - Cytopathologie du col utérin
- Intérêt pour le diagnostic précoce
- Communication
- Nouveaux outils numériques en cytopathologie
- Bilan perspectives et collaborations



Cas des séreuses étudiés



Cytologies normales avec simple inflammation

50 cas

Cytologies sub-normales avec contexte clinique de tumeur

20 cas

Métastases d'adéno-carcinome

50 cas

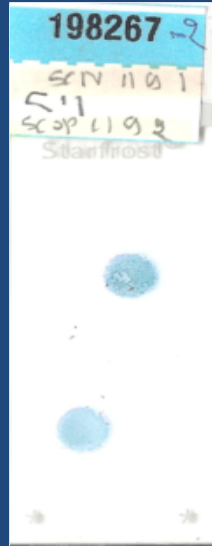
Mésothéliomes

20 cas

Types d'étalements et de colorations



Étalement conventionnel



Cytospin3 spot



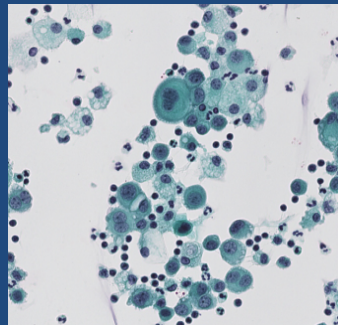
Megafunal



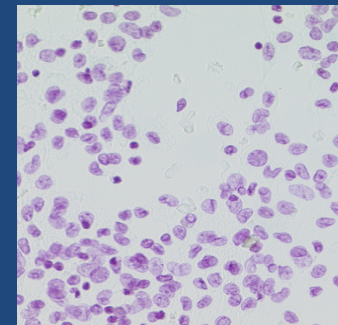
Thin prep



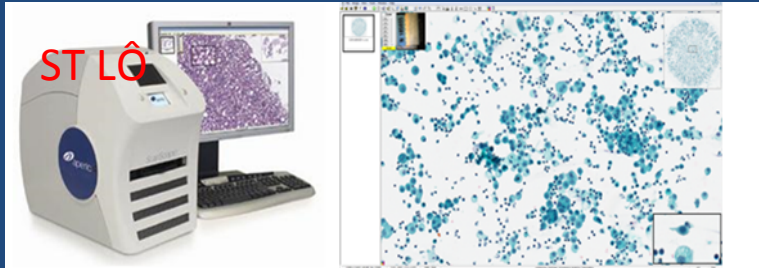
Coloration internationale et standardisée de Papanicolaou



Coloration de Feulgen

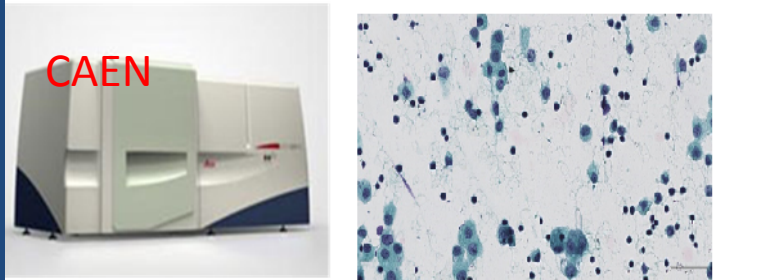


Méthodes d'acquisition

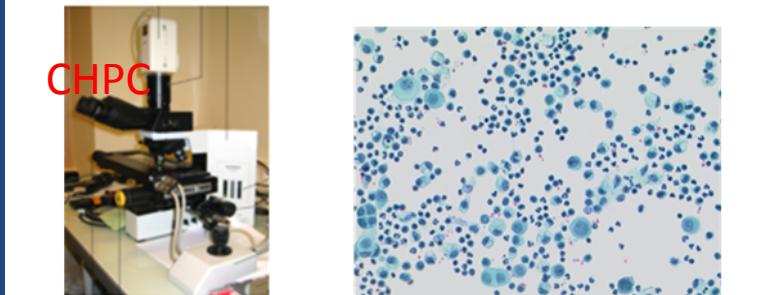


268 grandes images .svs – scanner Apero

517 lames



249 grandes images .scn – scanner Leica



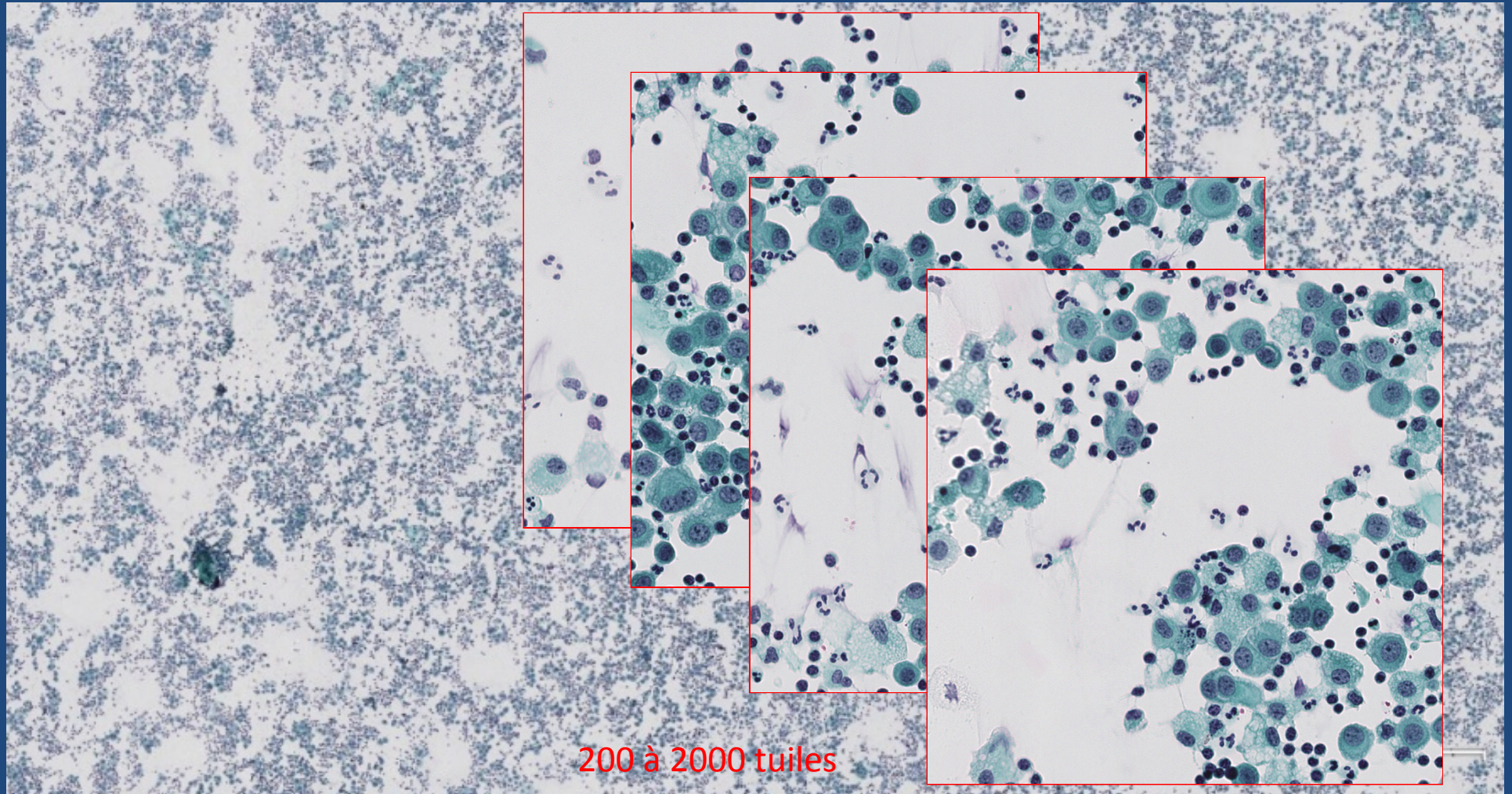
Plus de 100.000 images 1024*1024 .bmp -
microscope BX 50



1 journée par semaine

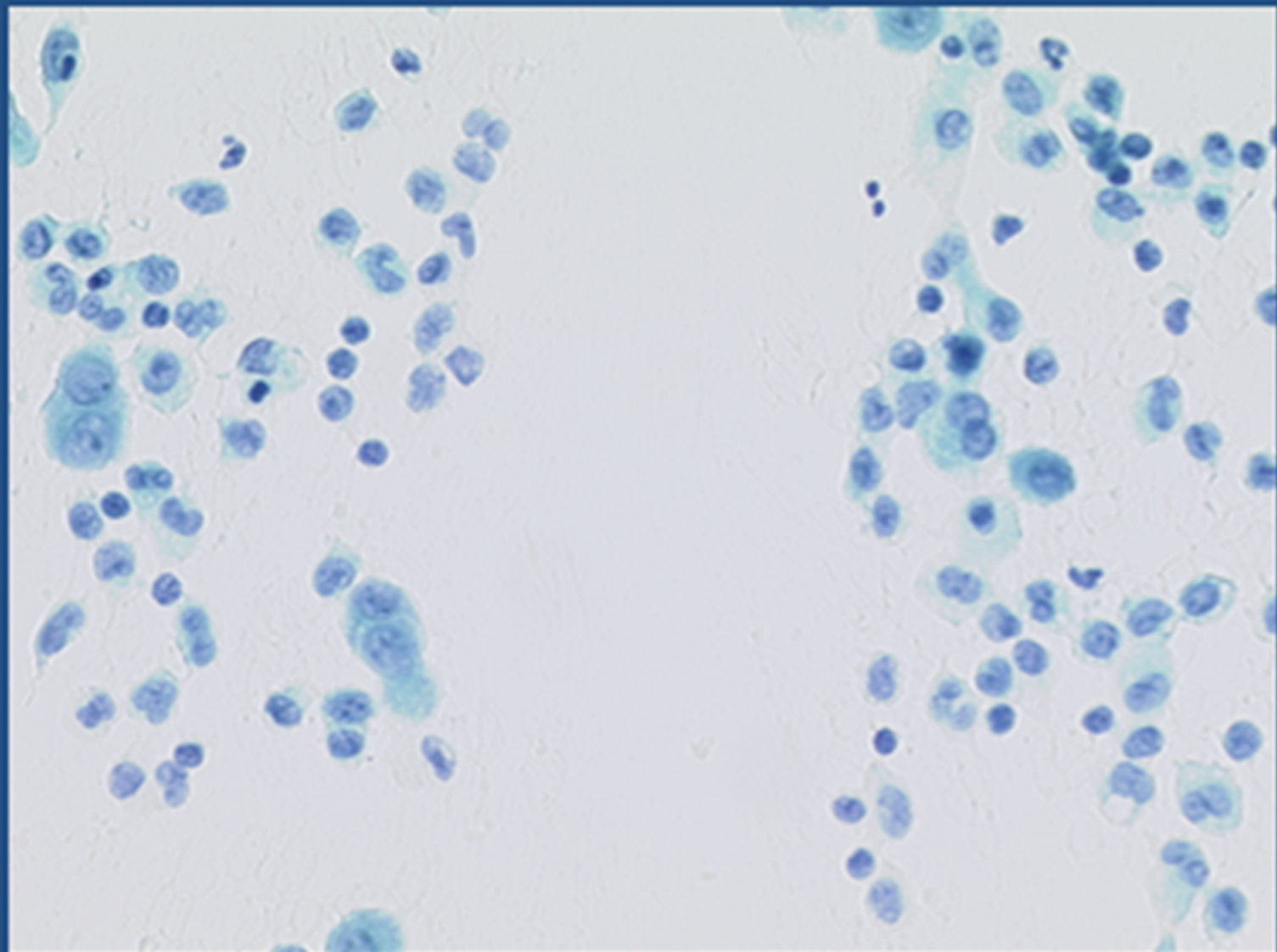
Traitement par analyse d'images

Splitting des grandes images

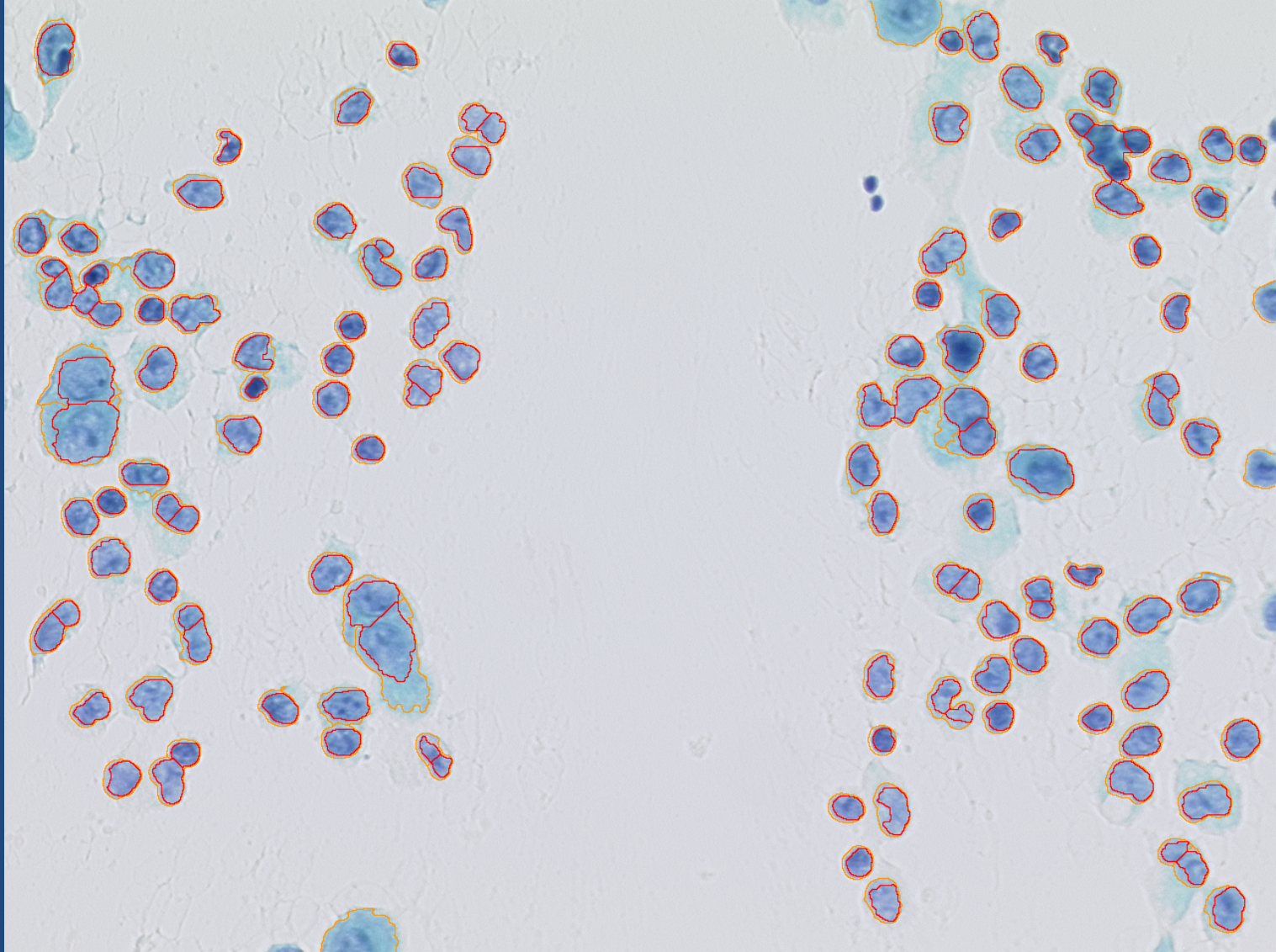


200 à 2000 tuiles

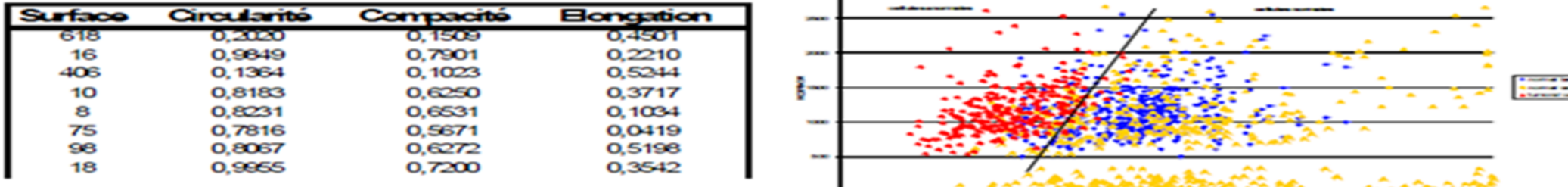
Traitement par analyse d'images



Segmentation



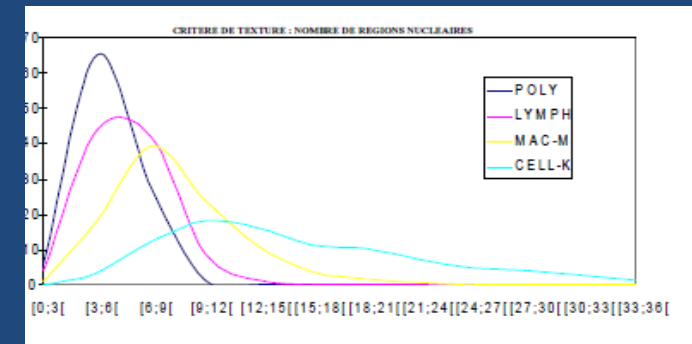
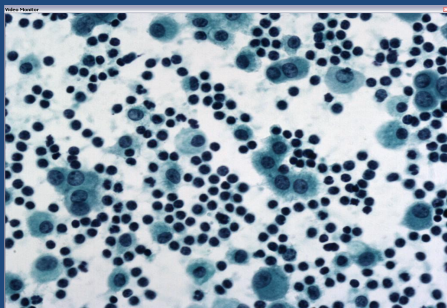
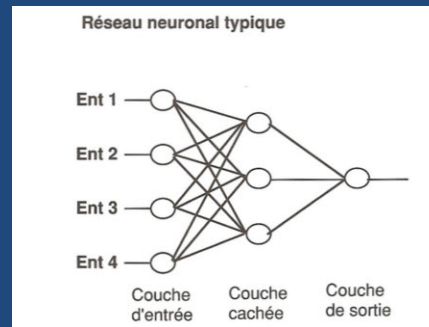
Caractérisation



Line No.	Surface Circulaire	Concavité	Elongation
20	121,211648	48,72	0,641711
21	56,94376	33,872	0,62378
22	55,27248	32,48	0,658452
23	34,016768	26,448	0,611107
24	46,39228	21,088	0,603264
25	47,432078	41,992	0,409277
26	30,733504	25,52	0,593008
27	55,654016	40,368	0,659445
28	45,911872	30,392	0,624621
29	59,367872	26,656	0,555228
30	85,84064	40,624	0,653417
31	27,288768	22,272	0,691314
32	60,175232	43,384	0,401762
33	29,99208	30,624	0,589298
34	27,91936	23,664	0,622038
35	80,520704	40,6	0,618854
36	48,534816	30,624	0,653417
37	52,851584	32,016	0,647982
38	48,495424	31,552	0,612149
39	28,83068	29,2	0,657221
40	27,504064	23,2	0,642174
41	28,042304	23,2	0,654708
42	34,39336	25,984	0,64014
43	28,903488	26,664	0,64857
44	27,281696	22,736	0,626748
45	28,849664	23,664	0,647402
46	27,71936	22,272	0,691314
47	23,342592	23,2	0,638372
48	26,804352	21,808	0,708245
49	27,71936	22,272	0,691314
50	23,135808	20,88	0,724506
51	28,2576	22,736	0,686937
52	27,71936	22,272	0,691314
53	24,703216	21,344	0,683147
54	25,88176	21,808	0,684068
55	25,88176	21,808	0,684068
56	25,88176	21,808	0,684068
57	25,88176	21,808	0,684068
58	25,88176	21,808	0,684068
59	25,88176	21,808	0,684068
60	25,88176	21,808	0,684068
61	25,88176	21,808	0,684068
62	25,88176	21,808	0,684068
63	25,88176	21,808	0,684068
64	25,88176	21,808	0,684068
65	25,88176	21,808	0,684068
66	25,88176	21,808	0,684068
67	25,88176	21,808	0,684068
68	25,88176	21,808	0,684068
69	25,88176	21,808	0,684068
70	25,88176	21,808	0,684068
71	25,88176	21,808	0,684068
72	25,88176	21,808	0,684068
73	25,88176	21,808	0,684068
74	25,88176	21,808	0,684068
75	25,88176	21,808	0,684068
76	25,88176	21,808	0,684068
77	25,88176	21,808	0,684068
78	25,88176	21,808	0,684068
79	25,88176	21,808	0,684068
80	25,88176	21,808	0,684068
81	25,88176	21,808	0,684068
82	25,88176	21,808	0,684068
83	25,88176	21,808	0,684068
84	25,88176	21,808	0,684068
85	25,88176	21,808	0,684068
86	25,88176	21,808	0,684068
87	25,88176	21,808	0,684068
88	25,88176	21,808	0,684068
89	25,88176	21,808	0,684068
90	25,88176	21,808	0,684068
91	25,88176	21,808	0,684068
92	25,88176	21,808	0,684068
93	25,88176	21,808	0,684068
94	25,88176	21,808	0,684068
95	25,88176	21,808	0,684068
96	25,88176	21,808	0,684068
97	25,88176	21,808	0,684068
98	25,88176	21,808	0,684068
99	25,88176	21,808	0,684068
100	25,88176	21,808	0,684068

Classification par architecture neuronale

- Utilise un réseau de neurones pour distinguer deux types différents de cellules
- L'architecture fusionne les décisions de tous les réseaux



Résultats de la classification

- Démonstration du classifieur

The screenshot displays the Arctic software interface for cell classification. The main window is titled "Arctic - [Serosu2-10-29.app]".

Cellules anormales: A grid of 48 small images showing individual cells, with some appearing slightly blurred or distorted compared to others.

Caractéristiques: A list of features used for classification, including:

- Polynucléaires
- Lymphocytes
- Macrophages
- Mésothéliales dystrophiques
- Cellules anormales
- Surface
- Périmètre
- Compacité
- SurfaceCyt
- PérimètreCyt
- CompacitéCyt
- Convexité
- Solécité
- Orientation
- MoyenneR
- MoyenneB
- VarianceR
- VarianceB
- VarianceG
- VarianceC
- VarianceM
- VarianceI
- VarianceCouleur
- Écart-type-Couleur
- Nbre-de-Montagnes
- Nbre-de-Vallées
- Taille-moyenne-Montagne
- Taille-moyenne-Vallée
- Écart-type-Int
- Écart-type-Ext
- Couleur-Montagne
- Couleur-Vallée
- Écart-type-OK
- Écart-type-CV
- Rapport-Int/Ext
- Dist-Moyen-des-M
- Dist-Moyen-des-I

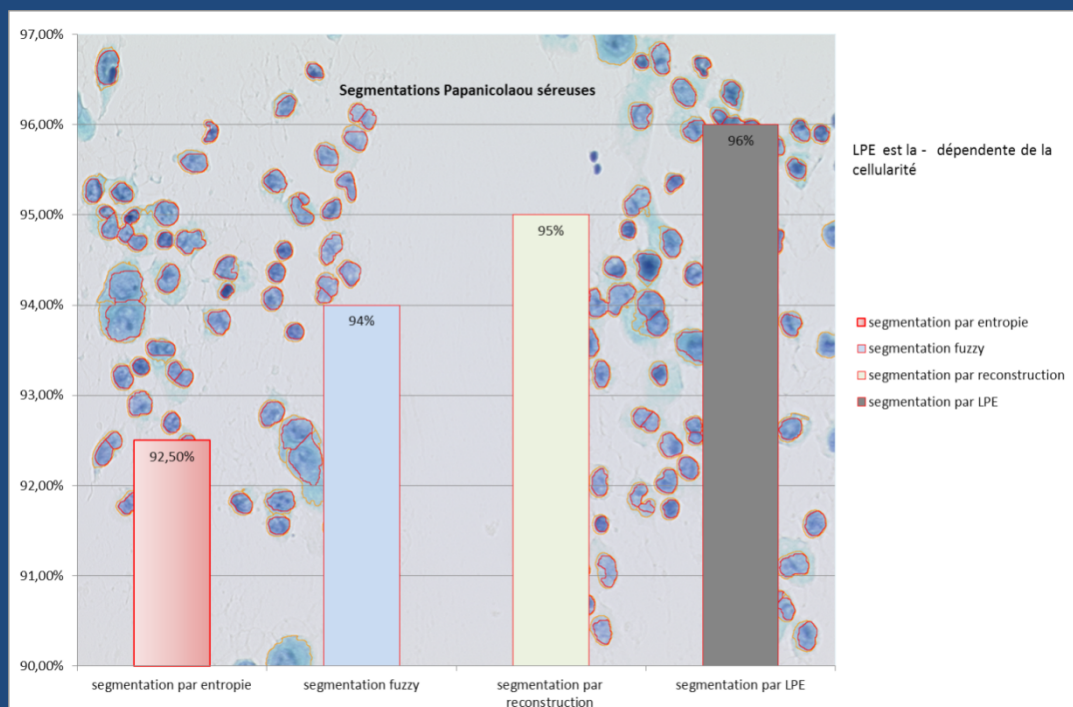
Graphique: A plot showing two overlapping histograms. The x-axis is labeled "MoyenneR" and ranges from 20 to 160. The y-axis ranges from 0.00500 to 0.02500. A red solid line represents one distribution, and a blue dashed line represents another. The red distribution is centered around 50, and the blue distribution is centered around 80.

Gestion des Images: A panel on the right with the following sections:

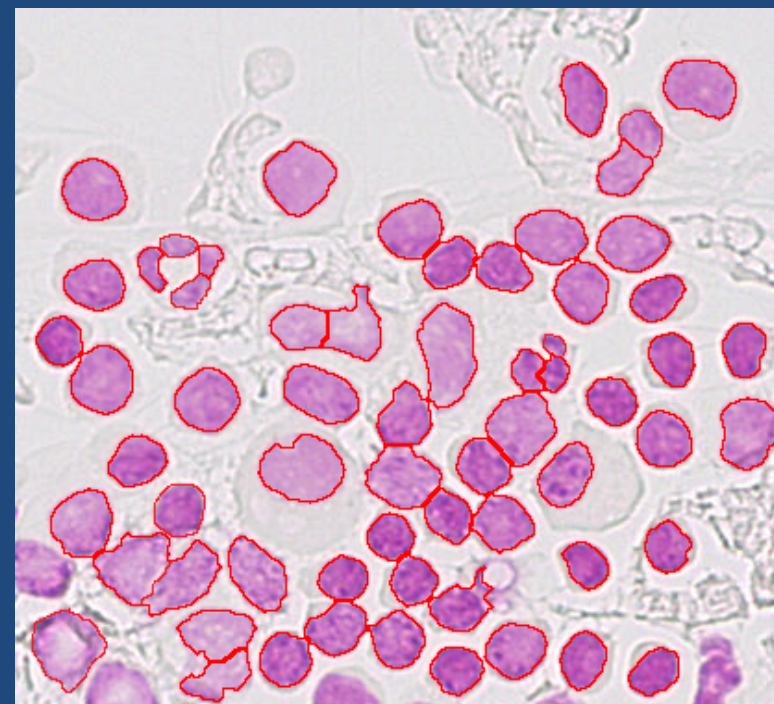
- Type d'objet: Cellule isolée, Anas, Débris
- Indications: Cellule Floue, Cellule mal segmentée, Aucune
- Modifier la classe: Buttons for Save, Load, Save buffer, Load buffer, Statistics, Features
- Segmentation: Segmentation
- Les Classes de cellules de la base: Cellules anormales, Mésothéliales dystrophiques, Mésothéliales, Macrophages, Lymphocytes, Polynucléaires

Résultats de la validation 2010-2011

- Validation des segmentations sur plus de 10000 cellules



Segmentations Pap : LPE 96%



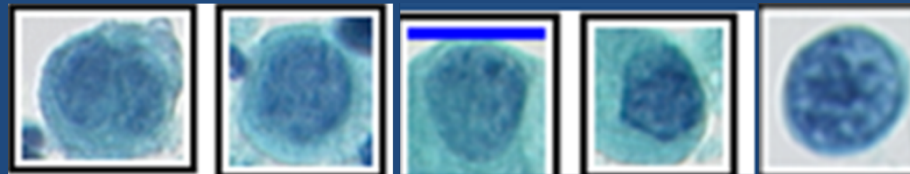
Segmentation Feulgen par équation eikonale: 99,5%

Résultats de la validation 2010-2011

Validation de la classification des séreuses sur près de 300 lames

Pour les 150 lames analysées de tumeurs certifiées: **98.5%** des cas ont été reconnus par notre système (les 1,5 % restants étant dus à des problèmes de focus à l'acquisition).

Cas avec une notion clinique de tumeur : **2.5%** (3 /135) des cas diagnostiqués comme négatifs par le pathologiste ont été évalués comme étant anormaux par notre système. Le pathologiste est donc alerté. Par exemple, le système a extrait ces rares cellules anormales :



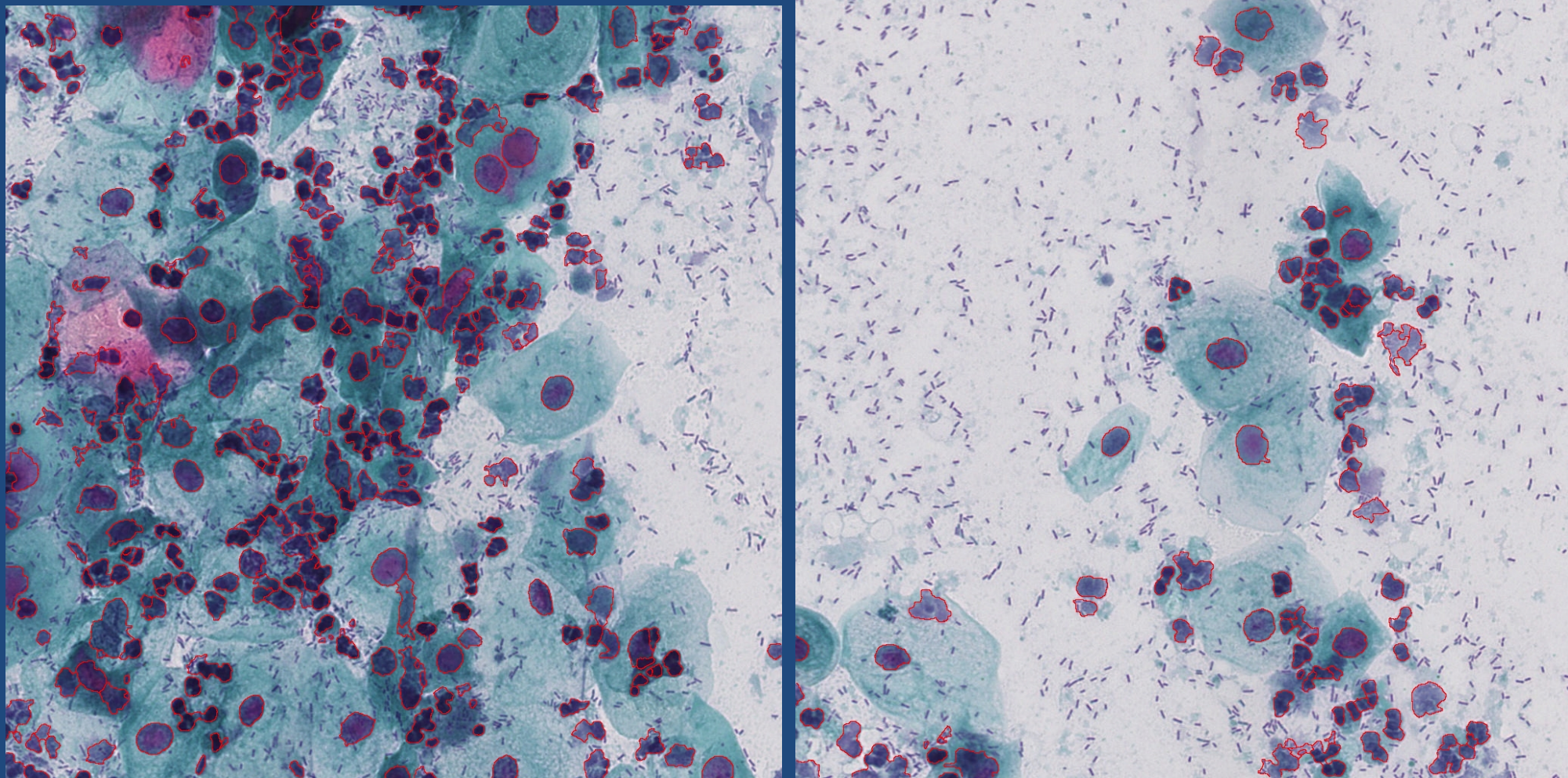
Le système est efficace pour la détection d'événements rares, par exemple, 373 cellules anormales sur un total de 107.102 cellules extraites ont été trouvées par notre système (**0,3%**).

Aujourd'hui **1000 cellules par seconde** – Demain

Résultats de la validation 2010-2011

Validation de la segmentation des cellules de la cytologie gynécologique

Validation en cours



Communication

CREATION D'UN SITE WEB / <http://www.valtricyt.free.fr>

Webmasters : Grégoire Olivier / Olivier Lezoray



Réunions scientifiques

10 réunions officielles du Conseil Scientifique Valtricyt
Caen Cherbourg-Octeville - Saint Lô

3 réunions avec le groupe Valtricyt et le groupe du CHRU Caen
GREYC-CHPC-CHRU

+ n réunions de travail : en moyenne +/-1 fois par semaine

Poster Société Française de Pathologie Paris 22-26 novembre 2010

Article dans les Annales de Pathologie



Validation du tri cellulaire informatisé en cytopathologie tumorale

Dr. Abdel Hassen, Dr. Olivier Lacroix - Université de Caen Basse Normandie, GREYC, CNRS UMR 6072
Dr. Robert Ede, M. Michel Lachaux - Service ACT Centre Hospitalier Public de Caen - Caen Cedex 09
<http://greyc.unicaen.fr>
<http://www.valtricyt.com>

CONTEXTE DU PROJET

Valtricyt est un projet de 3 ans qui a débuté en 2010, avec pour mission l'expertise de différentes méthodes d'analyse dans le domaine de la morphologie mathématique appliquée à la cytométrie dans le cadre d'une étude rétrospective et prospective de cas anatomo-cliniques. Ceci afin d'évaluer l'impact de la pathologie numérique comme outil d'aide au diagnostic et au pronostic pour le pathologiste. Il intègre la validation d'algorithmes innovants, issus de travaux collaboratifs hospitalo-universitaires, appliqués à des problématiques de cytopathologie tumorale. Cette étude a pour but l'analyse et la standardisation des différentes étapes qui conduisent à un tri cellulaire automatisé. La cytométrie par analyse d'images permet d'améliorer le diagnostic précoce des tumeurs (mésothéliome, carcinome urothélial de grade 1...) par une sélection automatique des cellules les plus atypiques, la quantification des paramètres karyométriques (ADN-ploïdie, texture nucléaire...) et l'analyse des organisateurs nucléolaires.

LE MATERIEL

Valtricyt intègre une étude comparative de 2 méthodes d'acquisition : une numérisation des images à partir d'un microscope photonique équipé d'une caméra tri CCD et la numérisation de grandes images obtenues avec un scanner haute résolution de type APERIO.

EXPERTISE DES METHODES EN CYTOMETRIE PAR ANALYSE D'IMAGES

VALIDATION DES METHODES DE SEGMENTATION DES NOYAUX ET DES CYTOPLASMES

Plusieurs méthodes de sélection automatique des contours nucléaires et cytoplasmiques ont été proposées dans le cadre de l'analyse des cellules colorées par la coloration standard de Papanicolaou et la coloration de Feulgen.

Sur une analyse de 10.000 cellules nous avons obtenu un taux de segmentation nucléaire et cytoplasmique correcte de 94,6 %.

LES CARACTERISTIQUES DES OBJETS CELLULAIRES

Nous disposons d'un panel de 50 paramètres (taille, forme, couleur et niveau de gris, texture) pour caractériser chaque noyau et chaque cytoplasme. Ces paramètres sont intégrés dans nos différents classificateurs pour permettre un tri cellulaire, soit par réseau neuronal, soit par analyse spectrale.

LES CLASSIFICATEURS DE CELLULES

Actuellement nous utilisons 2 types de classificateurs : les classificateurs neuronaux de type MONNA (Multiple Ordinate Neural Network Architecture) et les classificateurs par analyse spectrale utilisant 3 approches : l'approche supervisée - l'approche semi-supervisée et l'approche non supervisée. Ces différents classificateurs et ces 3 méthodes sont en cours d'expertise et de validation par le programme Valtricyt.

EXPERTISE DES APPLICATIONS PRACTIQUES EN CYTOPATHOLOGIE NUMERIQUE

CLASSIFICATION AUTOMATIQUE DES CELLULES DES CAVITES CORPORELLES

Les premiers résultats montrent un taux de reconnaissance de 94,5% pour les cellules normales, et de 99% pour les cellules anormales. Une amélioration et un meilleur équilibre des classes cellulaires pourraient améliorer le taux de reconnaissance des cellules anormales.

CLASSIFICATION DES CELLULES DU CARCINOME URINAIRE DE GRADE 1
CLASSIFICATION DES CELLULES EN CYTOPATHOLOGIE BRONCHIQUE ET EN CYTOPATHOLOGIE GYNECOLOGIQUE

L'étude du carcinome urothélial de grade 1 est prévue à partir de 2011 sur la base d'une étude comparative entre classificateur neuronal et analyse spectrale; celle des cytologies bronchique et gynécologique sont prévues pour 2012.

LA CYTOMETRIE DES REGIONS ORGANISATRICES NUCLEOLAIRES AgNORS

Les noyaux sont colorés par la coloration de Papanicolaou ou au nitrate d'argent couplée à une contre-coloration nucléaire de Feulgen.

Détection des contours

Analyse des paramètres

L'étude multiparamétrique de la surface des AgNORS et d'un paramètre de forme permet de couvrir l'aspect qualitatif d'une population cellulaire anormale avec une population témoin de cellules normales de même type, ce qui permet de dégager une expression de l'agressivité tumorale.

LISTE DES TRAVAUX DE RECHERCHE DEPUIS 1995

1995-1996 : Thèse de **Philippe Lacroix** - Expérimentation d'un triage par morphologie mathématique et classification des données par réseaux neuronaux - Application à la classification des cellules en cytologie gynécologique et en cytologie bronchique.

2001-2002 : Pr. **Abdel Hassen** et **Olivier Lacroix** - Méthode de sélection automatique des contours nucléaires et cytoplasmiques - Application à la classification des cellules en cytologie gynécologique et en cytologie bronchique.

2003-2004 : Thèse de **Robert Ede** - Application d'un triage automatique par morphologie mathématique et classification des données par réseaux neuronaux - Application à la classification des cellules en cytologie gynécologique et en cytologie bronchique.

2005-2006 : Thèse de **Michel Lachaux** - Méthode de sélection par morphologie mathématique et classification des données par réseaux neuronaux - Application à la classification des cellules en cytologie gynécologique et en cytologie bronchique.

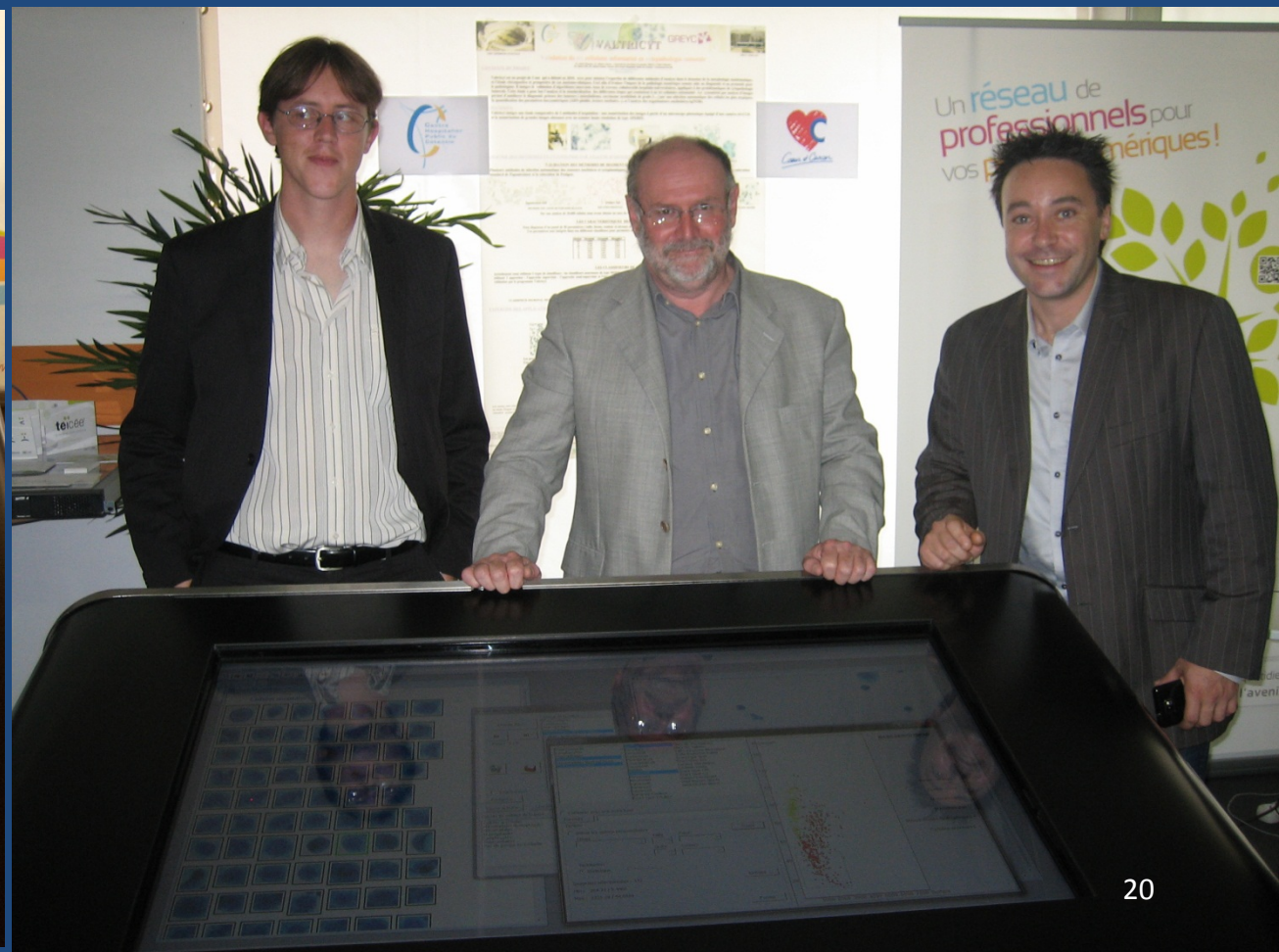
2007-2008 : Thèse de **Abdel Hassen** - Méthode de sélection par morphologie mathématique et classification des données par réseaux neuronaux - Application à la classification des cellules en cytologie gynécologique et en cytologie bronchique.

2009-2010 : Thèse de **Olivier Lacroix** - Méthode de sélection par morphologie mathématique et classification des données par réseaux neuronaux - Application à la classification des cellules en cytologie gynécologique et en cytologie bronchique.

FINANCEE PAR LE CNRS - DANS LE CADRE DU PROJET ANR 05-53-0001 - RESEAUX NEURONAUX APPLIQUES A LA TRIAGE DES DONNEES MEDICALES (REAN)

Remerciements à nos financeurs : Conseil Régional de Basse Normandie - Association « Cour et Cancer de la Manche » - Syndicat Mére de la Manche - Centre Siméon-Denis Manche GREYC

Démonstration à la foire internationale de Caen stand de la CCI - TIC 2011



Diffusion des informations dans MEDICO'TENTIN et dans HOP'COTENTIN



HOP'COTENTIN

Numéro 23 — Octobre 2011

VALTRICYT : la recherche cherbourgeoise s'expose aux USA !

Le service d'anatomie pathologique apporte sa contribution au diagnostic du cancer par l'étude des cellules tumorales. L'image habituelle est celle du médecin penché sur son microscope pour étudier des prélèvements étalés entre lame et lamelle.

Au CHPC, on passe à la vitesse supérieure et à l'ère numérique grâce à un ambitieux projet de recherche régional nommé « VALTRICYT » (validation du tri cellulaire informatisé en cytopathologie tumorale), en collaboration avec le GREYC (Groupe de recherche en informatique, image et instrumentation de Caen), équipe universitaire site délocalisé Manche du CNRS-UMR6072 de l'Université de Caen. Notre recherche vise la détection et le comptage des cellules tumorales sur ordinateur avec une précision de 95% ! aidant ainsi le diagnostic précoce des tumeurs. Des résultats très prometteurs sont présentés fin octobre 2011 à un congrès professionnel aux Etats Unis, par un de nos techniciens, Michel Lécluse. H.E.



MEDICO'TENTIN

N° 1—OCTOBRE 2011

Le lien entre le CHPC et les médecins libéraux

VALTRICYT : NOS CHERCHEURS PRÉSENTENT LEURS RÉSULTATS À SAN DIEGO, USA

Déterminer si un prélèvement cytologique comporte des cellules cancéreuses, c'est le travail des anatomopathologistes. Pouvoir le faire automatiquement avec une excellente fiabilité, c'est le travail de recherche qu'ont engagé les équipes du GREYC (groupe de recherche en informatique, image et instrumentation de Caen) laboratoire de recherche CNRS-UMR6072 et l'équipe d'anatomopathologie du CHPC. Pour ce faire nos opérateurs locaux utilisent la cytométrie par analyse d'image liée à l'intelligence artificielle sur des

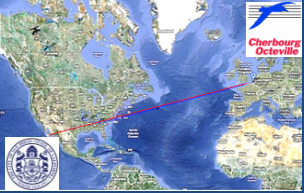
prélèvements cytologiques et la rendent performante grâce à de puissants outils mathématiques issus de la recherche fondamentale : dès le début du travail la reconnaissance des cellules cancéreuses atteint 95% ! L'objet de recherche de 2011 est le mésothéliome (en collaboration avec le Pr. Galateau-Salle, expert international du CHRU) et le cancer du col utérin.

Les premiers résultats sont présentés à un colloque professionnel à San Diego fin octobre 2011.

Contact : Dr H. Elie, M. Lécluse. ; secrétariat : 02.33.20.76.31

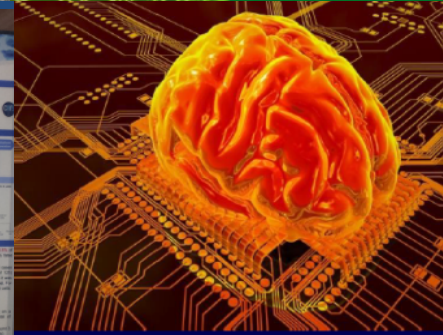
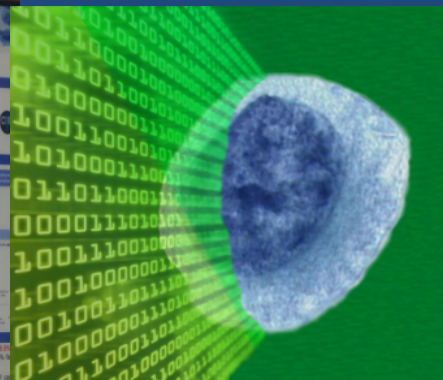
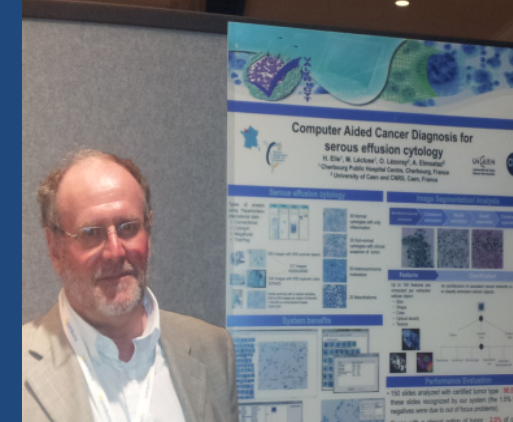
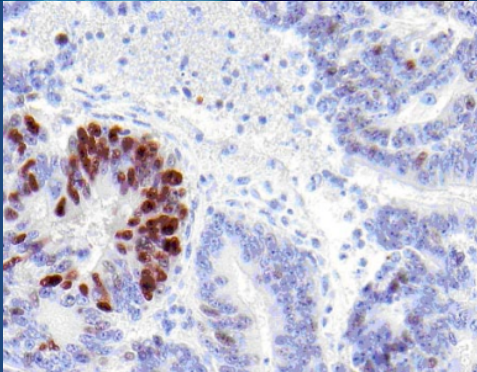
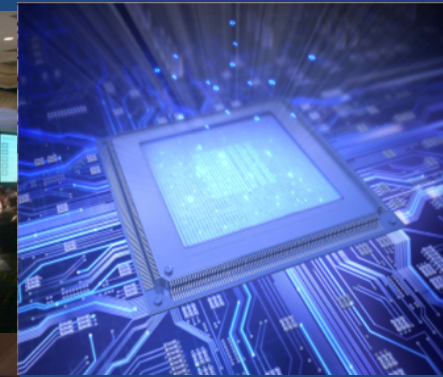
Centre Hospitalier Public du Cotentin

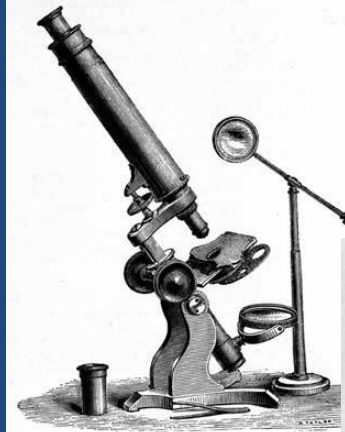
46, rue du Val de Saire- BP 208 - 50102 Cherbourg-Octeville - Standard : 02 33 20 70 00 - Fax général : 02 33 20 76 09 - <http://www.ch-cotentin.fr>



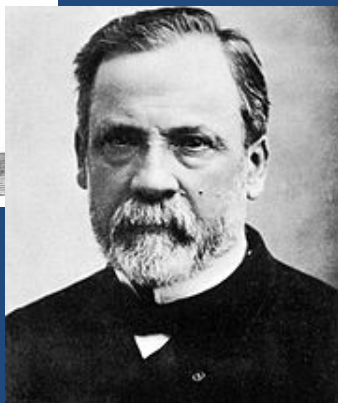
Congrès International de l'Association pour la Pathologie Digitale 2011 San Diego USA

2011 PATHOLOGY
VISIONS





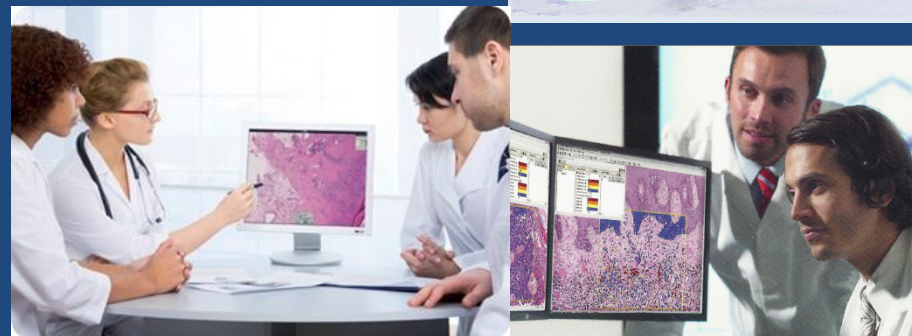
1860



2010

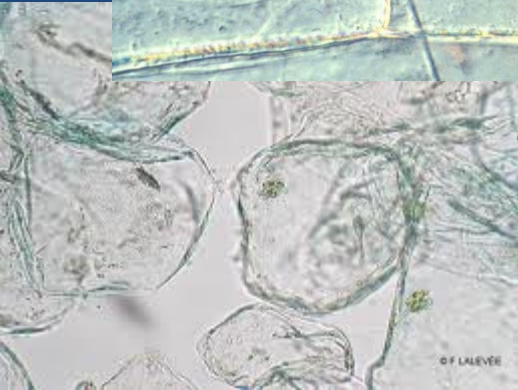
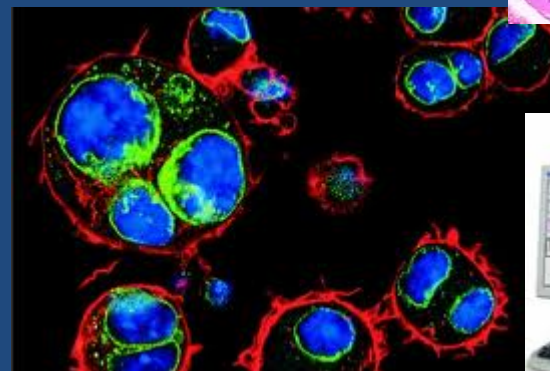
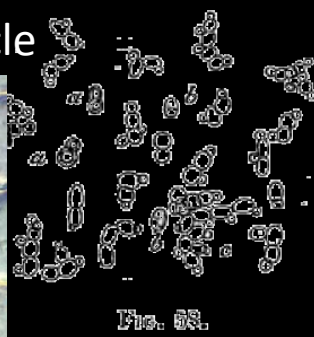
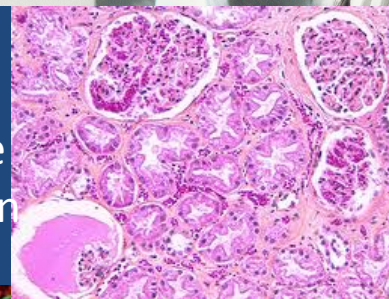


Travail en équipes internationales



Fin du travail solitaire avec des microscopes d'un autre siècle

Expertises à distance
Télépathologie numérique
Validation et quantification





Qui évolue dans cette recherche ?

Partenaires du programme

- CHPC **Cherbourg-Octeville**

Dr H.Elie – M.Lécluse

- GREYC **Université Caen:**

Pr A.Elmoataz – Pr O.Lezoray – D.Matte

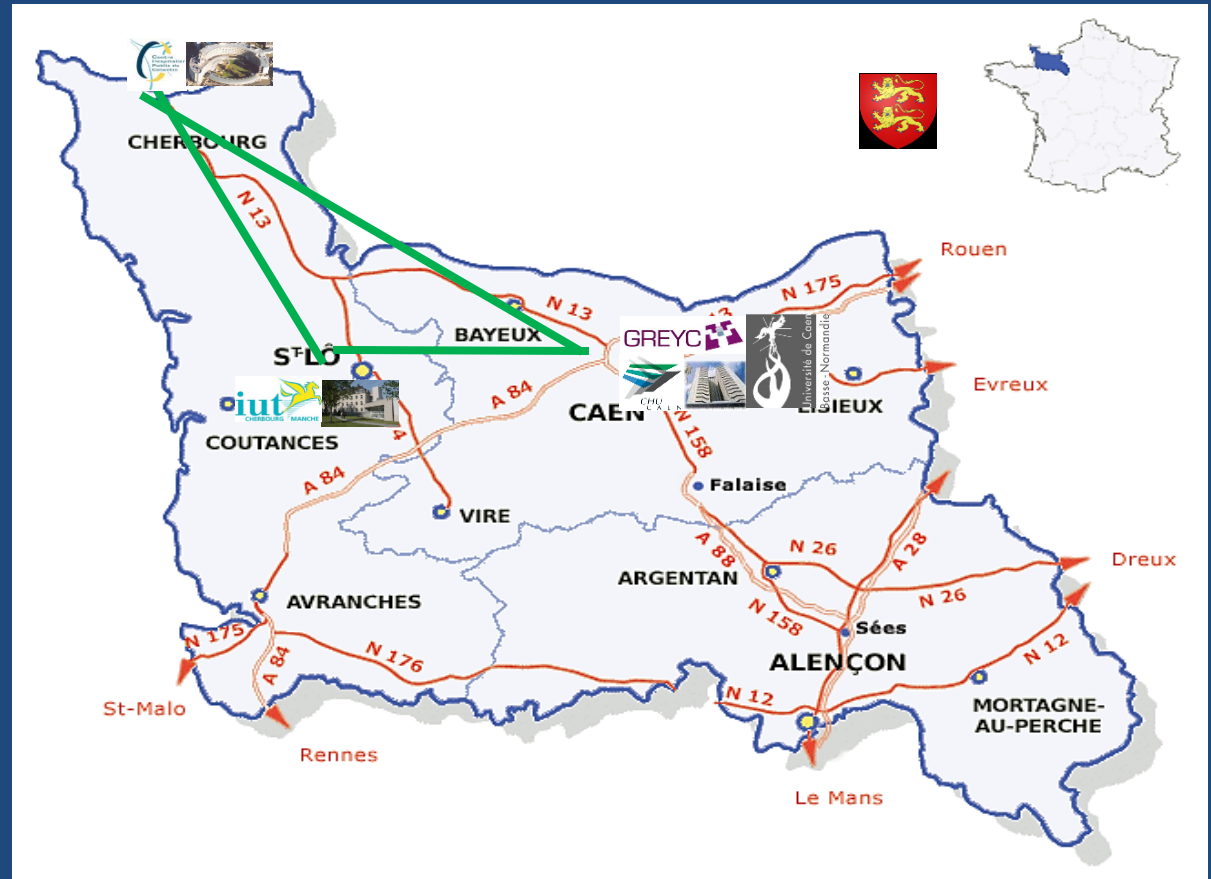
Collaborations

- CHRU **Caen**

Pr. F.Galateau-Salles – Dr Gaétane Planchard – Thomas Rousval

- Société **DateXim Caen**

Jean-Huges Provot & Arnaud Renouf



Collaborations

- Collaboration avec le Service de Pathologie du CHRU de Caen dans le cadre du projet international Mésopath

Professeur F. Galateau-Salles

Thomas Rousvoal - Gervais Clarebout



Thèse de Médecine 2011-2012 - Gaétane Planchard

« Recherche de critères pour l'identification des états précancéreux de la plèvre.

Diagnostic de l'hyperplasie mésothéliale atypique dans les produits d'épanchements pleuraux en cytométrie par analyse d'images, immunohistochimie et biologie moléculaire. »

Collaboration avec la société DateXim



Jean-Hugues Pruvot
Arnaud Renouf

www.datexim.com



Remerciements à

- Conseil Régional Basse-Normandie
- Association « Cœur & Cancer de la Manche »
- SMC pour le matériel

