



# VALIDATION DU TRI CELLULAIRE INFORMATISÉ EN CYTOPATHOLOGIE TUMORALE BILAN 2010-2012



# 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



15 ans de collaboration hospitalo-universitaire GREYC-CHPC

5 thèses + de 10 publications

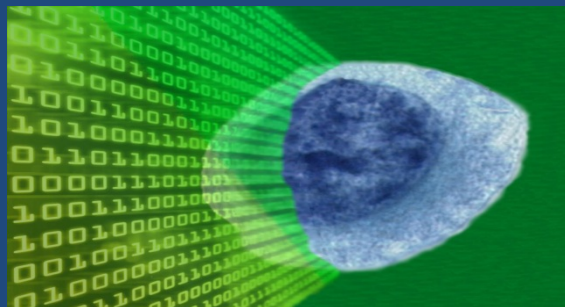
1<sup>er</sup> prix IBM 2011 - DPA San Diego 2011 – MICCAI NICE 2012

1<sup>er</sup> prix « Recherche et Innovation » 2012 Entreprise DATEXIM

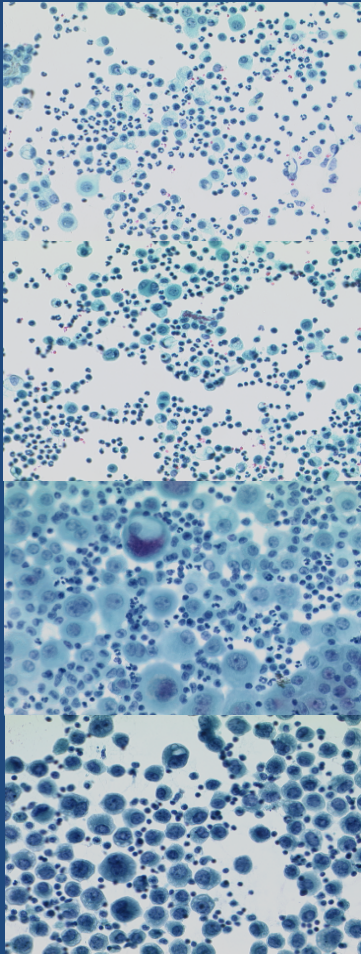


# Plan

- Analyse d'images et tri cellulaire informatisé
  - Cytopathologie des séreuses
  - Cytopathologie du col utérin
- Intérêts 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



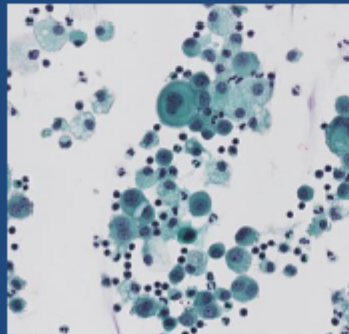
Megafunal



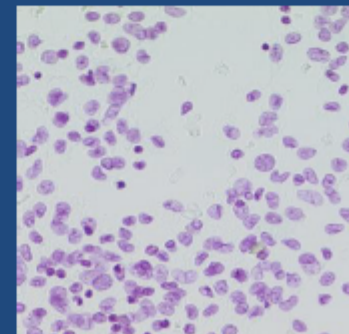
Thin prep

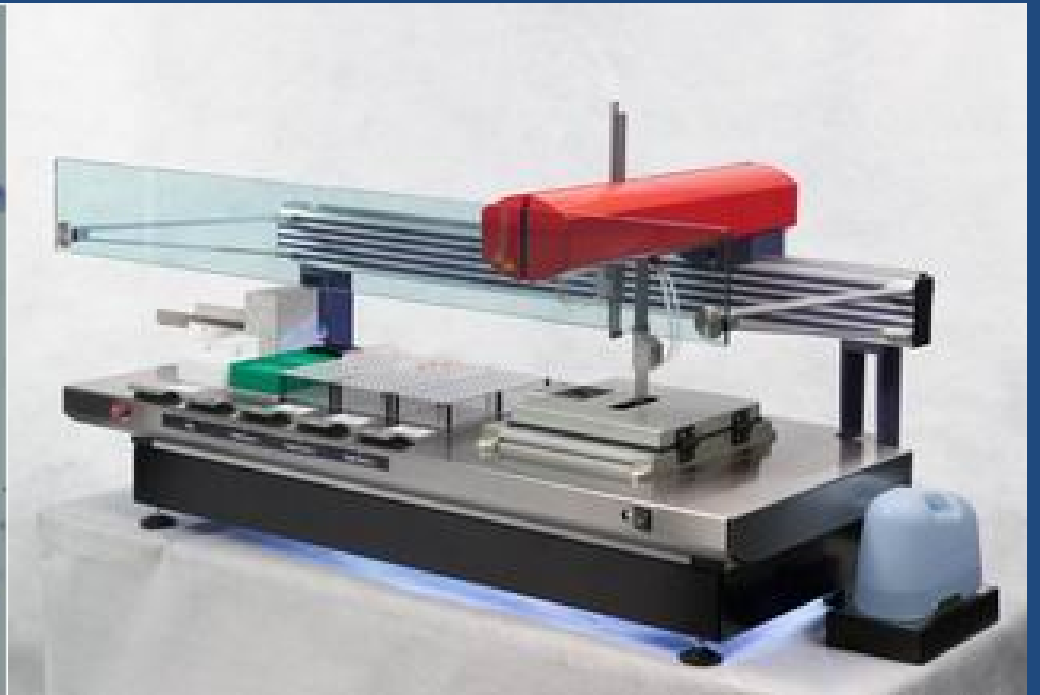
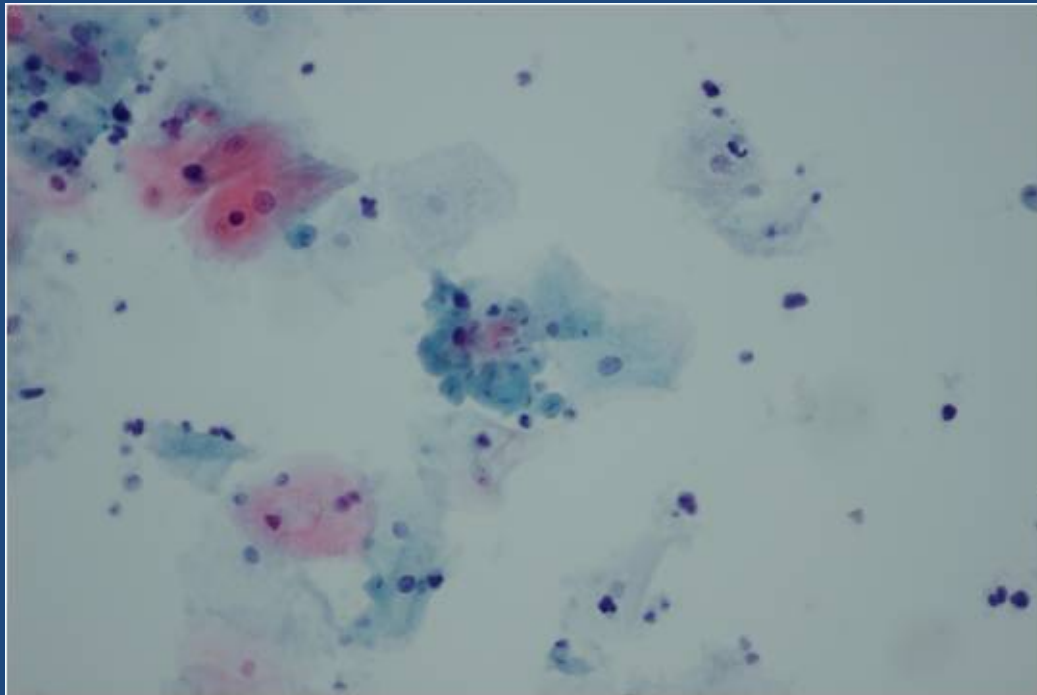
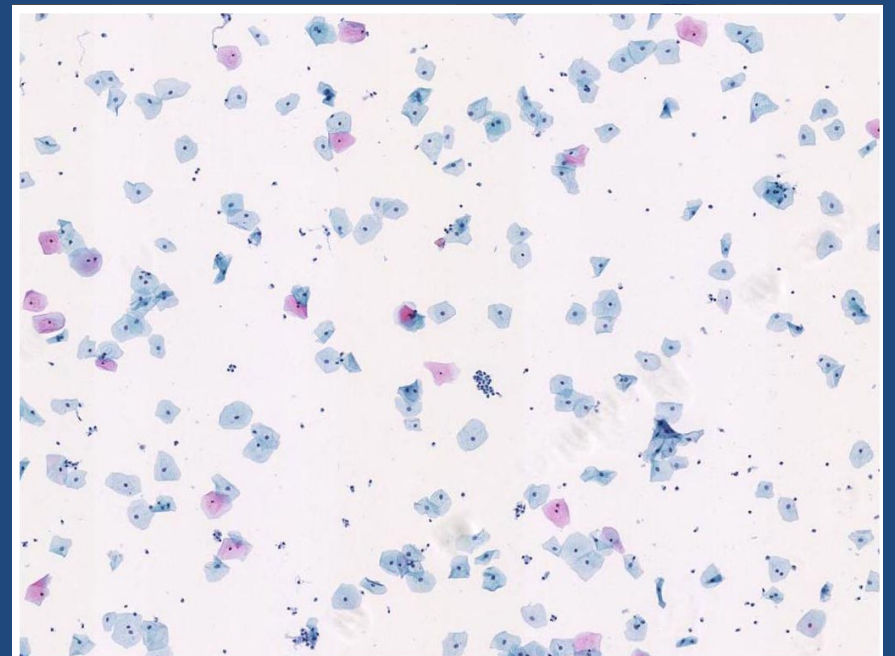


Coloration internationale et standardisée de Papanicolaou



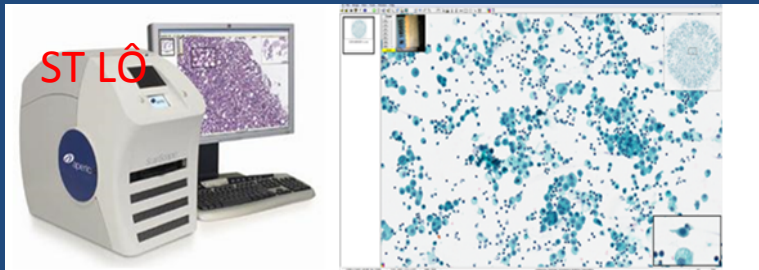
Coloration de Feulgen





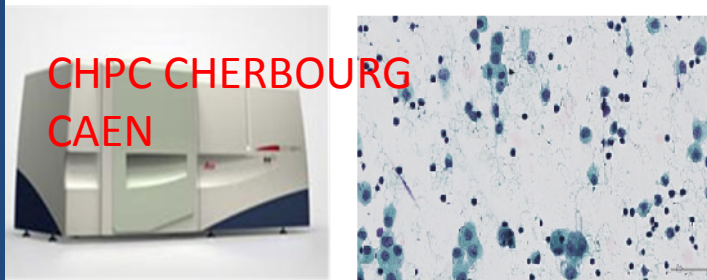


# Méthodes d'acquisition

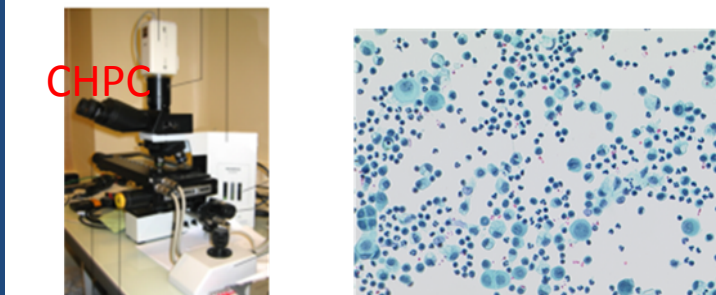


268 grandes images .svs – scanner Aperio

883 lames



615 grandes images .scn – scanner Leica



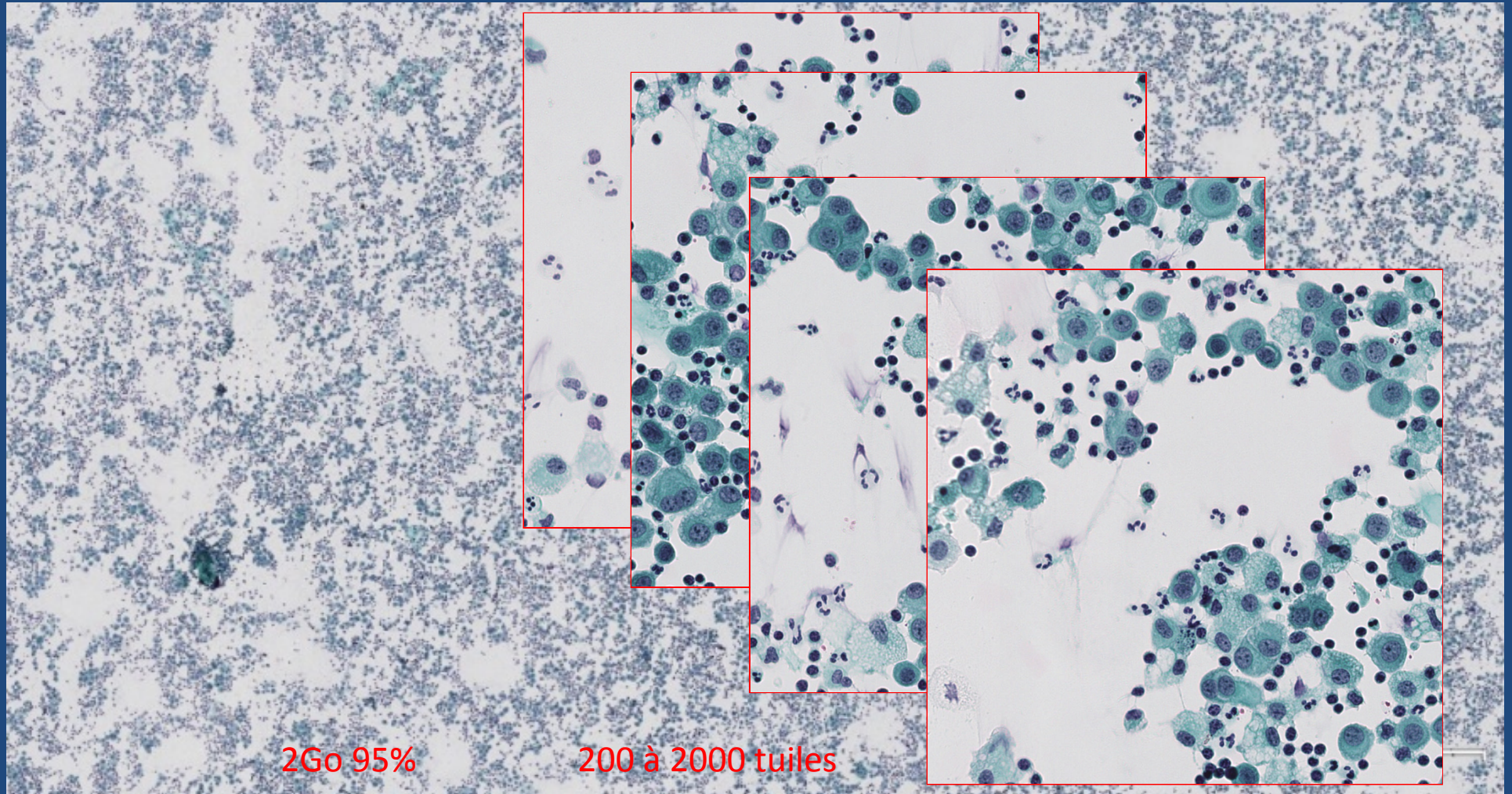
Plus de 100.000 images 1024\*1024 .bmp -  
microscope BX 50 sur 200 cas



**TOTAL / 1083 cas**

# Traitement par analyse d'images

Splitting des grandes images

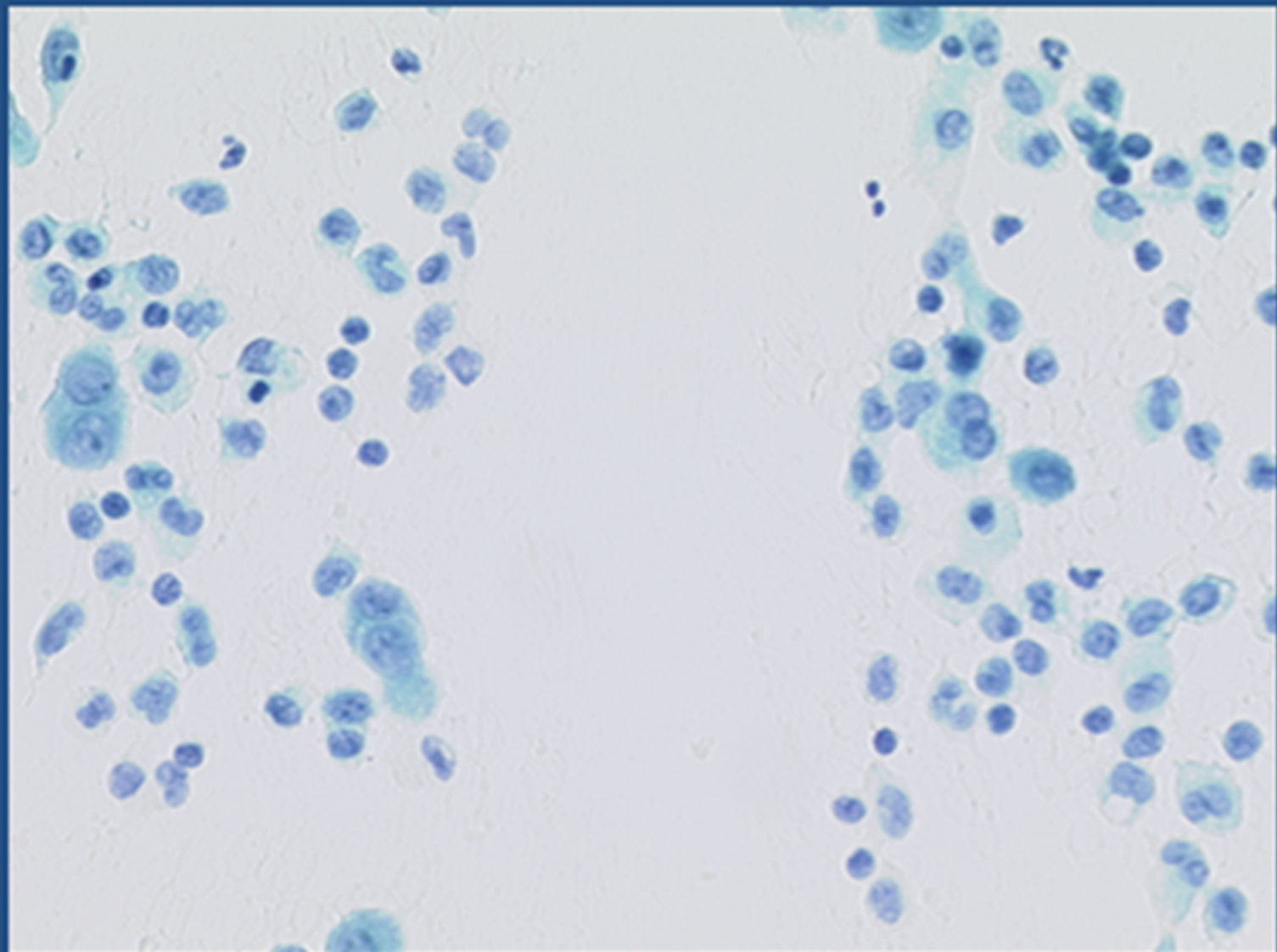


2Go 95%

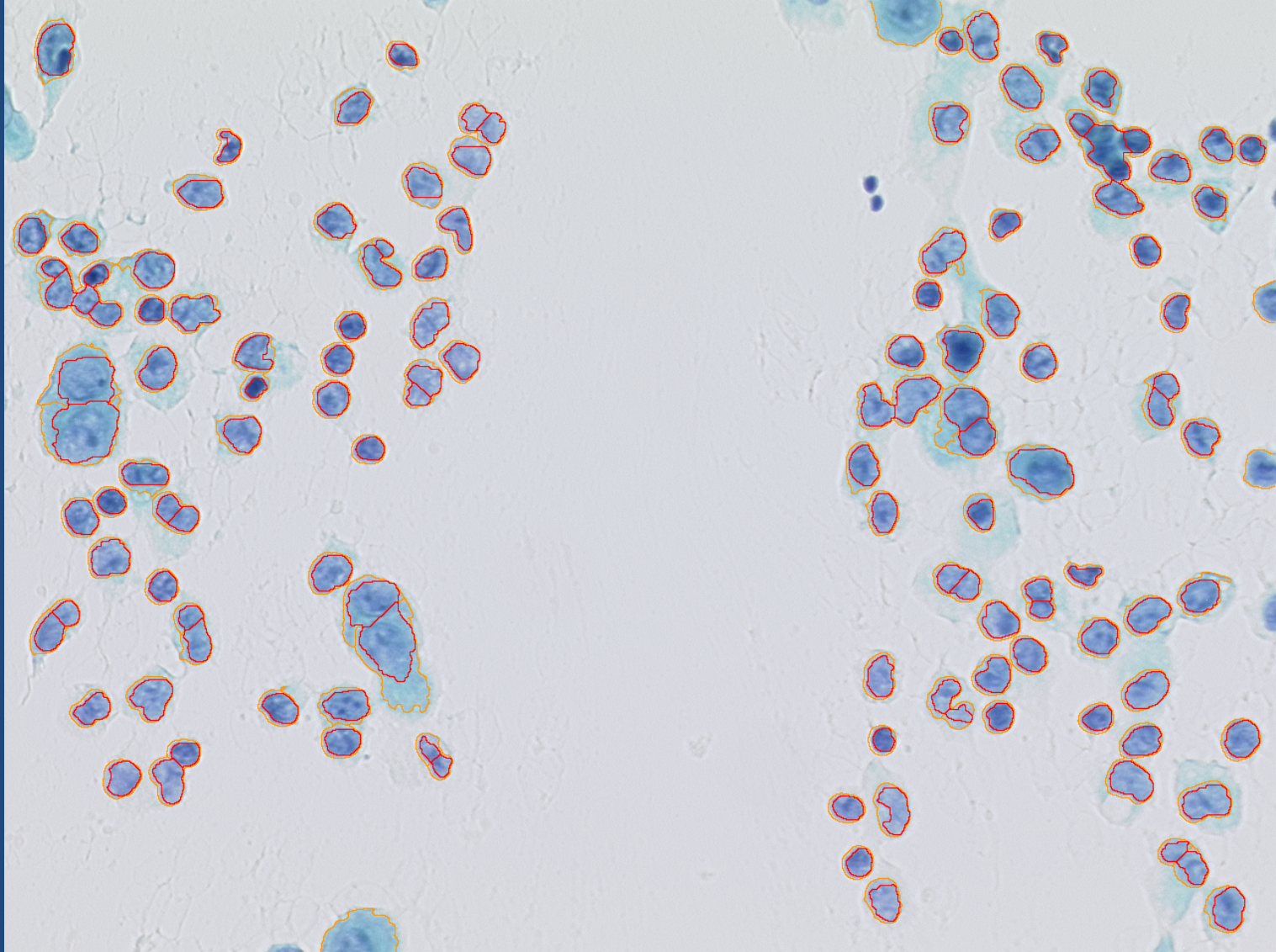
200 à 2000 tuiles



# Traitement par analyse d'images



# Segmentation

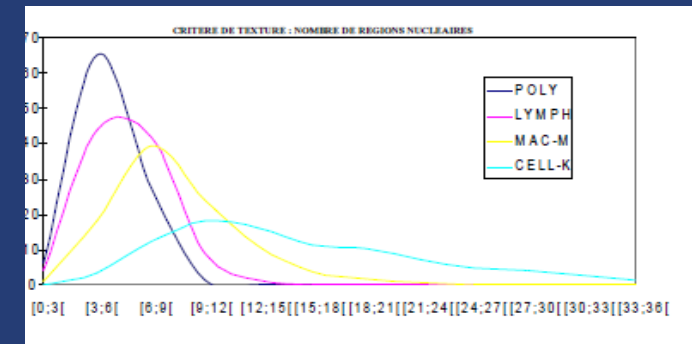
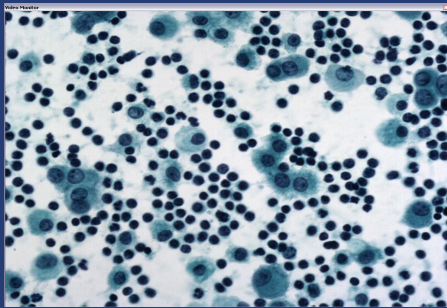
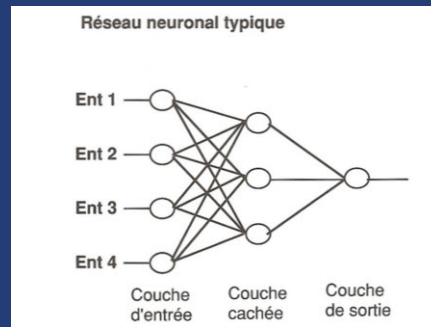






# Classification par architecture neuronale

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



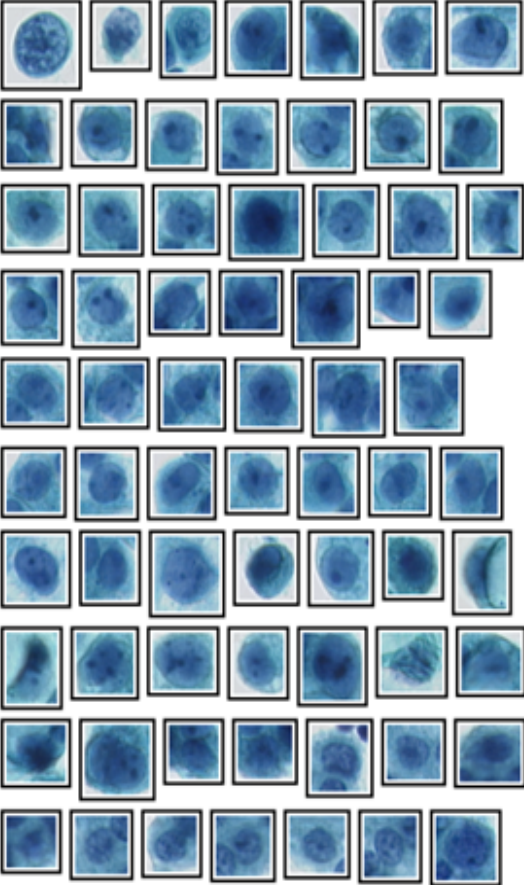


# Résultats de la classification

Arctic - [Serous2-10-29.app]

File Edit View Base Window ?

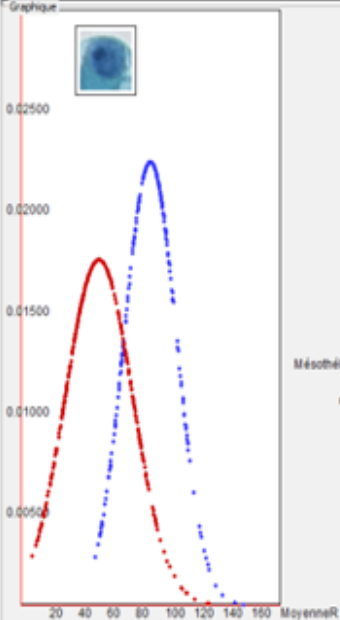
Cellules anormales



Caractéristiques

Polynucléaires	Surface	Nbre-de-Montagnes
Lymphocytes	Périmètre	Nbre-de-Vallées
Macrophages	Compacité	Taille-moyenne-Montagne
Mésothéliales	SurfaceCyt	Taille-moyenne-Vallée
Mésothéliales dystrophiques	PérimètreCyt	Écart-type-Im
Cellules anormales	CompacitéCyt	Écart-type-Imv
	Convexité	Couleur-Montagne
	Solitude	Couleur-Vallée
	MoyenneR	Écart-type-OM
	MoyenneB	Écart-type-CV
	VarianceR	Rapport-Imv/Im
	VarianceB	Dépl-Moyen-des-M
	VarianceC	Dépl-Moyen-des-V
	Variance-Couleur	
	Écart-type-Couleur	

Graphique



SEROUS

- Polynucléaires
- Lymphocytes
- Macrophages
- Mésothéliales
- Mésothéliales dystrophiques
- Cellules anormales

Gestion des Images

Type d'objet

- Cellule isolée
- Amas
- Débris

Indications

- Cellule Floue
- Cellule mal segmentée
- Aucune

Modifier la classe

Save

Save buffer

Load buffer

Statistics

Features

Les Classes de cellules de la base :

- Cellules anormales
- Mésothéliales dystrophiques
- Mésothéliales
- Macrophages
- Lymphocytes
- Polynucléaires

Comparer avec la base

Parcourir ...

Options

Utiliser les options personnalisées

Classe: Mésothéliales

Taille: 5

Fond: Bleu

Ordre: 3

Contour: Bleu

Distribution

Statistique  Histogramme

Images sélectionnées : 21

Min : 55.59 / 0.0171

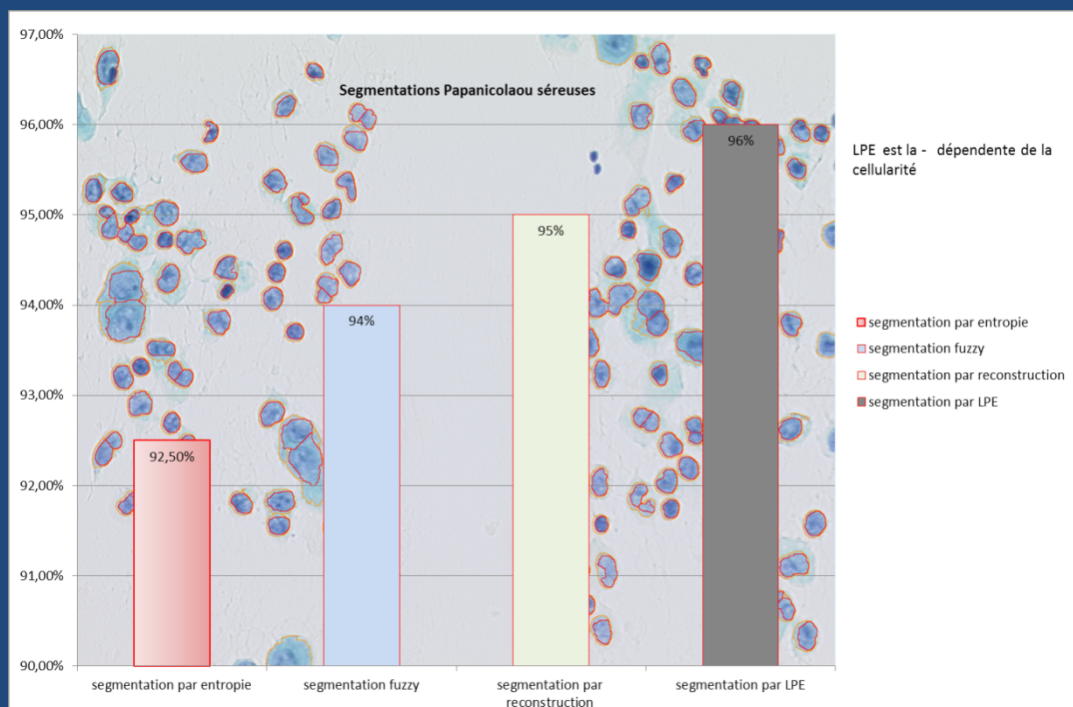
Max : 55.59 / 0.0171

Extraire ...

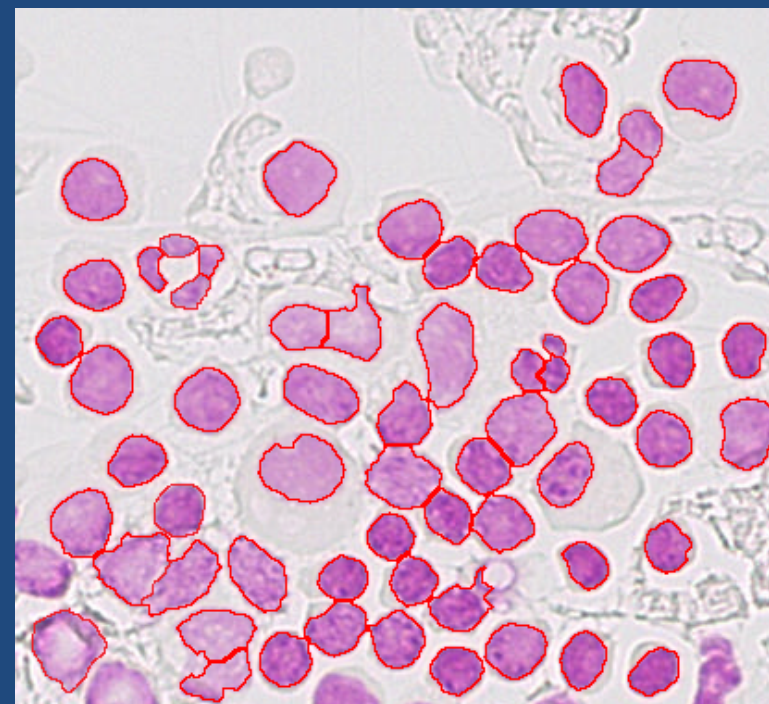
Fermer

# 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%

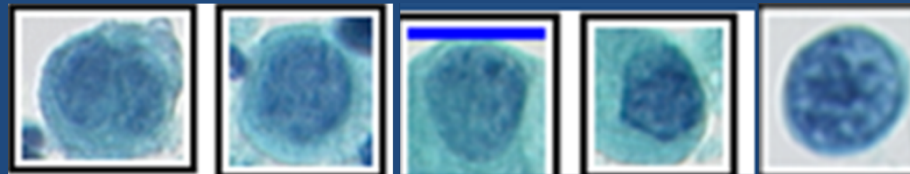


# Résultats de la validation 2010-2012

## 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 :



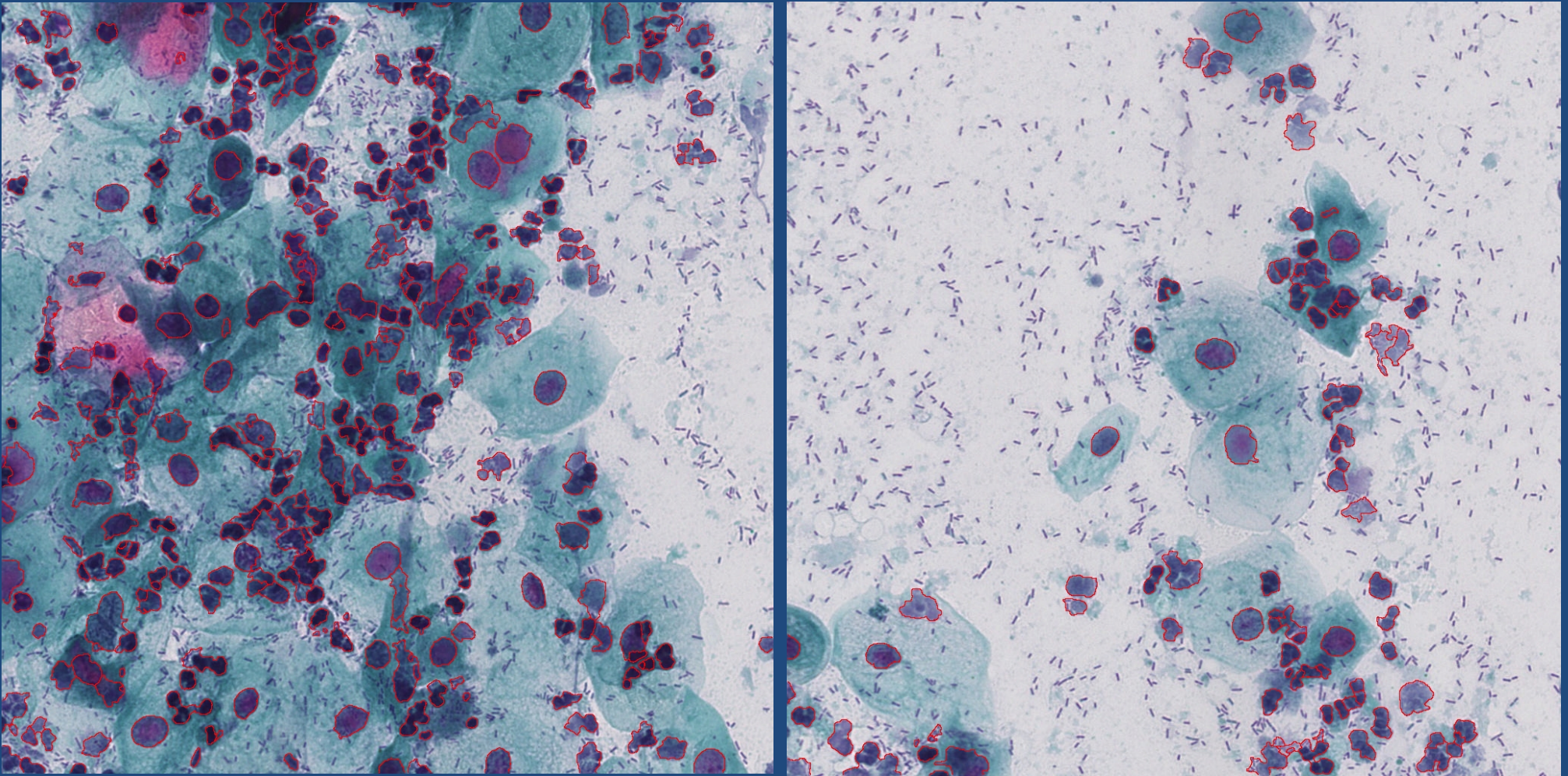
Le système est efficace pour la détection d'événements rares, par exemple, 373 cellules anormales sur un total de 107.102 cellules extraites ont été trouvées par notre système (**0,3%**).

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

# Résultats de la validation 2010-2012

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 Lézoray



# 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 Elie, M. Michel Lacharie - Service ACT Centre Hospitalier Public de Caen - Cherbourg-Octeville  
http://greyc.unicaen.fr/valtricyt  
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 niveaux 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.

Surface	Circulaire	Cytoplasmique	Élongation
40	0.046	0.048	0.047
49	0.046	0.047	0.047
50	0.046	0.047	0.047
6	0.023	0.023	0.024
8	0.023	0.023	0.024
46	0.023	0.023	0.024
51	0.046	0.047	0.047

**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 2011.

**LA CYTOMETRIE DES REGIONS ORGANISATRICES NUCLEOLAIRES AgNORS**

Les noyaux sont colorés par la coloration de Plois 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'images par morphologie mathématique et classification des données par réseaux neuronaux - Application à la classification des cellules en cytopathologie normale et anormale (2010).

2001-2002 - **Ph. Abdel Hassen, O. Lacroix, M. Lacharie, R. Elie** - Développement d'un logiciel de tri cellulaire automatisé par analyse d'images.

2002-2003 - Thèse de **Christophe Lacroix** - Application d'images médicales pour la classification automatique de données de pathologie.

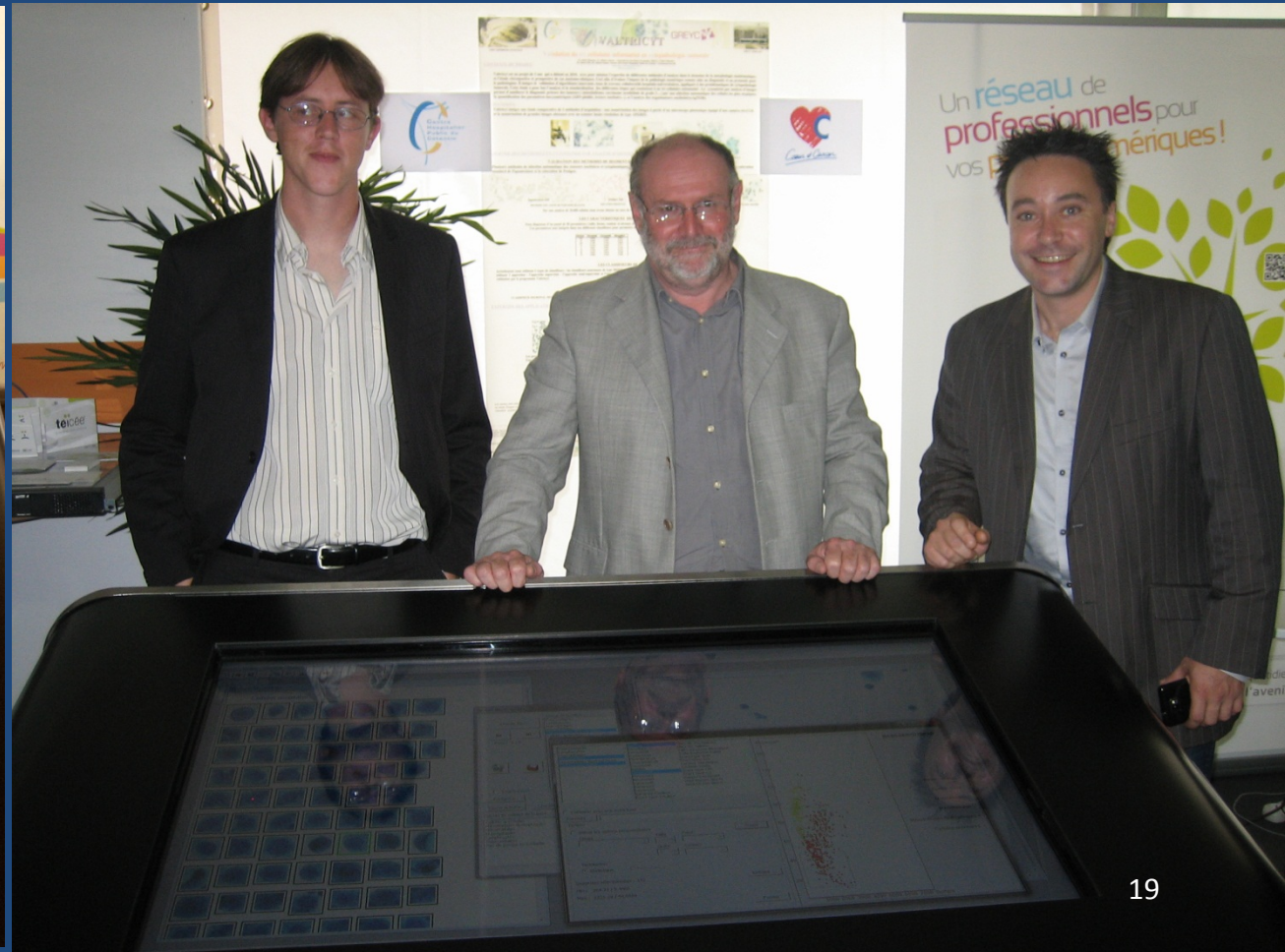
2003-2004 - Thèse de **Philippe Lacroix** - Méthode de tri cellulaire par analyse d'images pour la classification automatique de données de pathologie.

2006-2007 - Thèse de **Philippe Lacroix** - Méthode de tri cellulaire par analyse d'images pour la classification automatique de données de pathologie.

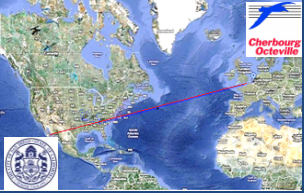
2008-2009 - Thèse de **Philippe Lacroix** - Méthode de tri cellulaire par analyse d'images pour la classification automatique de données de pathologie.



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

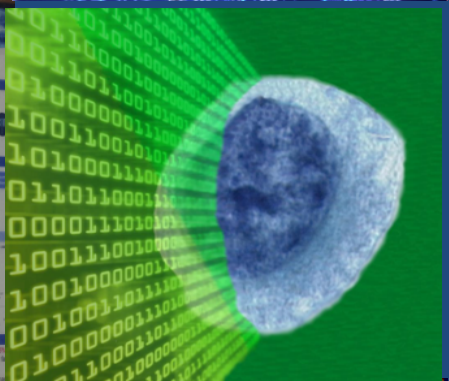
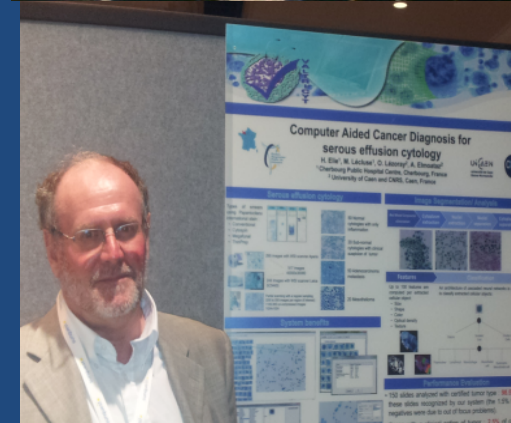
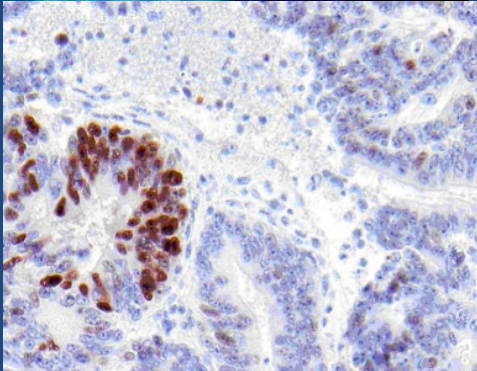






# Congrès International de l'Association pour la Pathologie Digitale 2011 San Diego USA

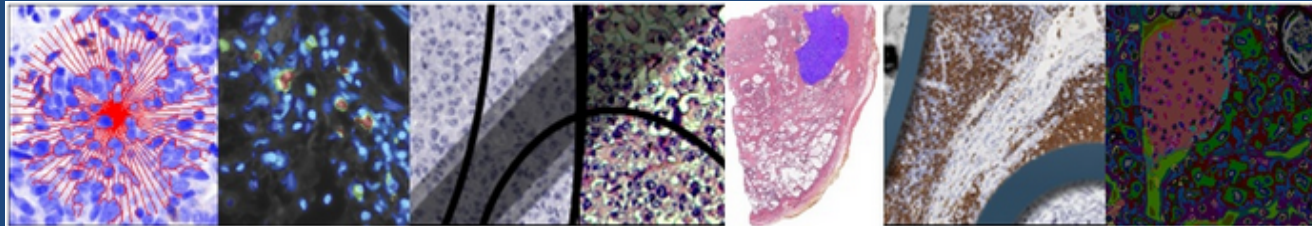
2011 PATHOLOGY  
VISIONS







Keynote Speaker: Prof Olivier Lézoray GREYC



# Computerized Image Analysis in Digital Pathology with Histological and Cytological Virtual Slides

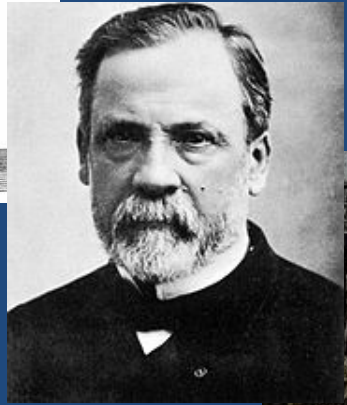


Hôpital PASTEUR  
CHERBOURG

1860

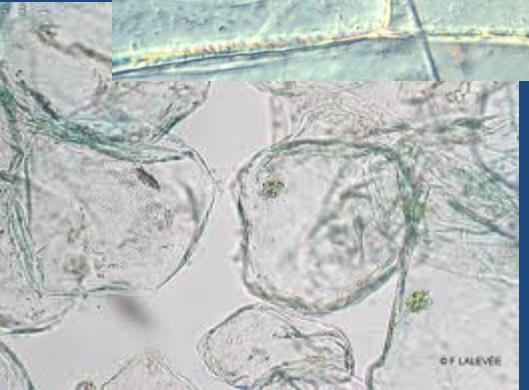
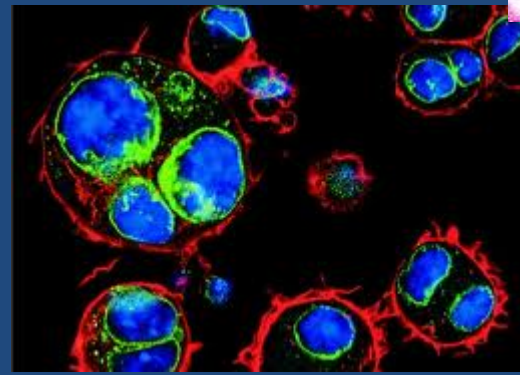
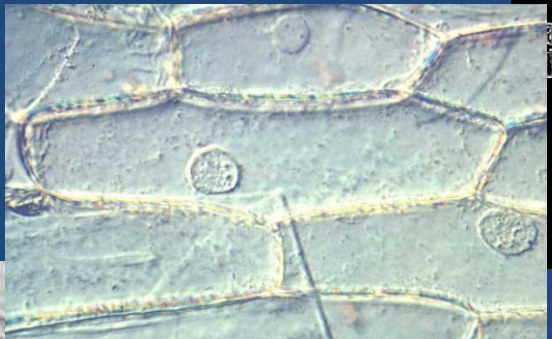
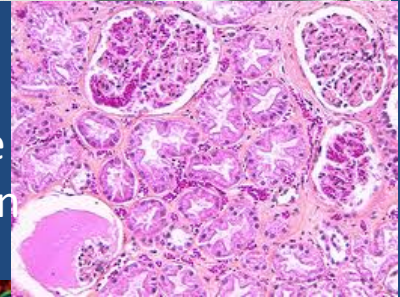
Centre Hospitalier Public  
du Cotentin  
CHERBOURG-OCTEVILLE  
2010

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.Lézoray – D.Matte

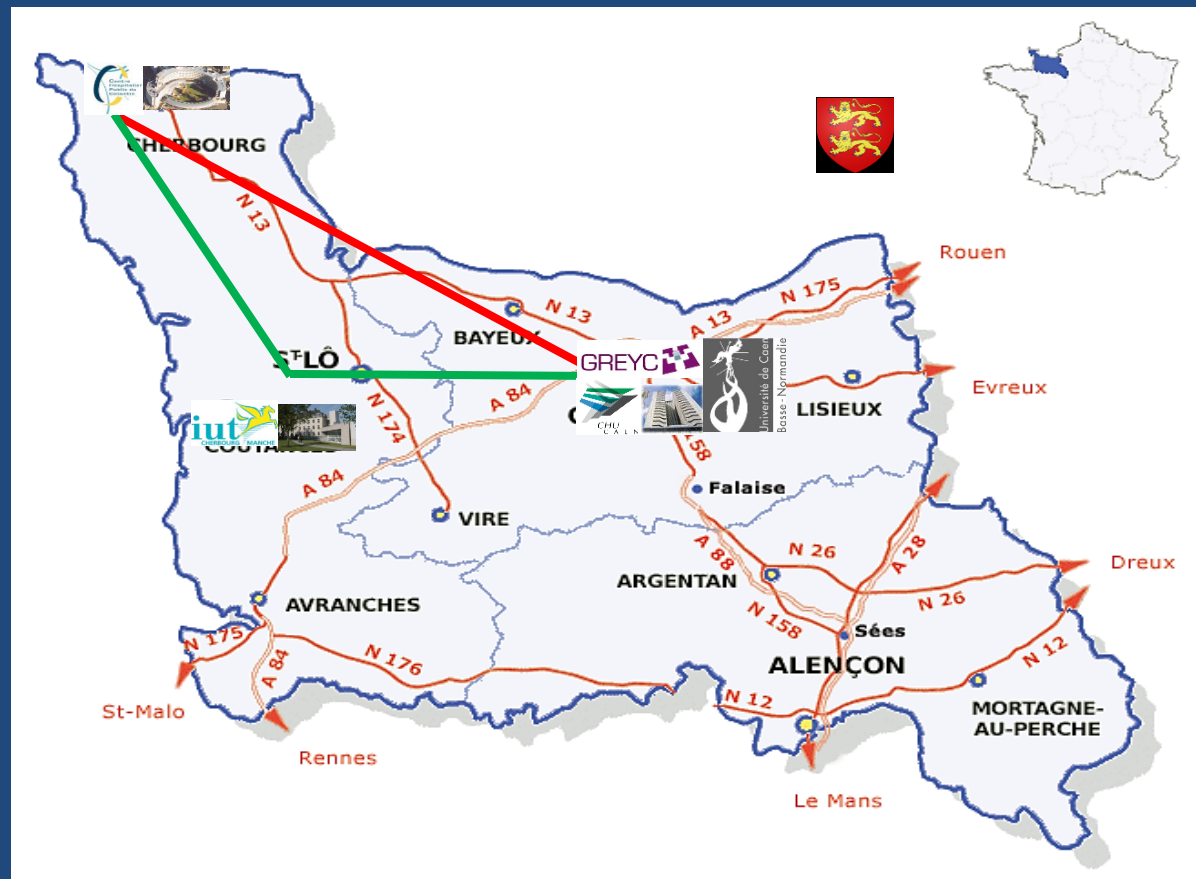
## Collaborations

- CHRU **Caen**

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

- Société **DateXim Caen**

Jean-Hugues Pruvot & Arnaud Renouf



# Collaborations

- Collaboration avec le Service de Pathologie du CHRU de Caen dans le cadre du projet international Mésopath-IMEC et du projet E-path

Professeur F. Galateau-Salle

Thomas Rousvoal - Gaétane Planchard



Thèse de Médecine 2012-2013 - 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

<http://www.datexim.com/>

+

3 ingénieurs

Ce projet est le fruit de plusieurs années de travaux de recherches réalisés au sein de l'équipe image (GREYC-antenne de la Manche) en collaboration avec les médecins et pathologistes du CHPC de Cherbourg-Octeville.



La société DATEXIM a reçu le 5 juillet 2012, le prix du 14ème concours national d'aide à la création d'entreprises innovantes.

# Les perspectives

## Analyse et Traitement en Ligne de Grandes Masses de Données issues de lames virtuelles

Doter les systèmes de télépathologie ou de télé-enseignement de capacités informatiques d'analyse et de quantification

- Un volet médical : exploitation de lames virtuelles pour des études anatomo-cliniques.
- Un volet « e-pathologie »: Outils d'analyse d'images par internet, télédiagnostic, partage d'expertise et d'aide à la formation
- Enjeux scientifiques, technologiques et médicaux

# Projets post VALTRICYT

Projet Région – FEDER : **OLOCYG**

**OPTIMISATION LOGICIELLE EN CYTOLOGIE GYNECOLOGIQUE**

**CHPC-GREYC-DATEXIM  
2013-2015**



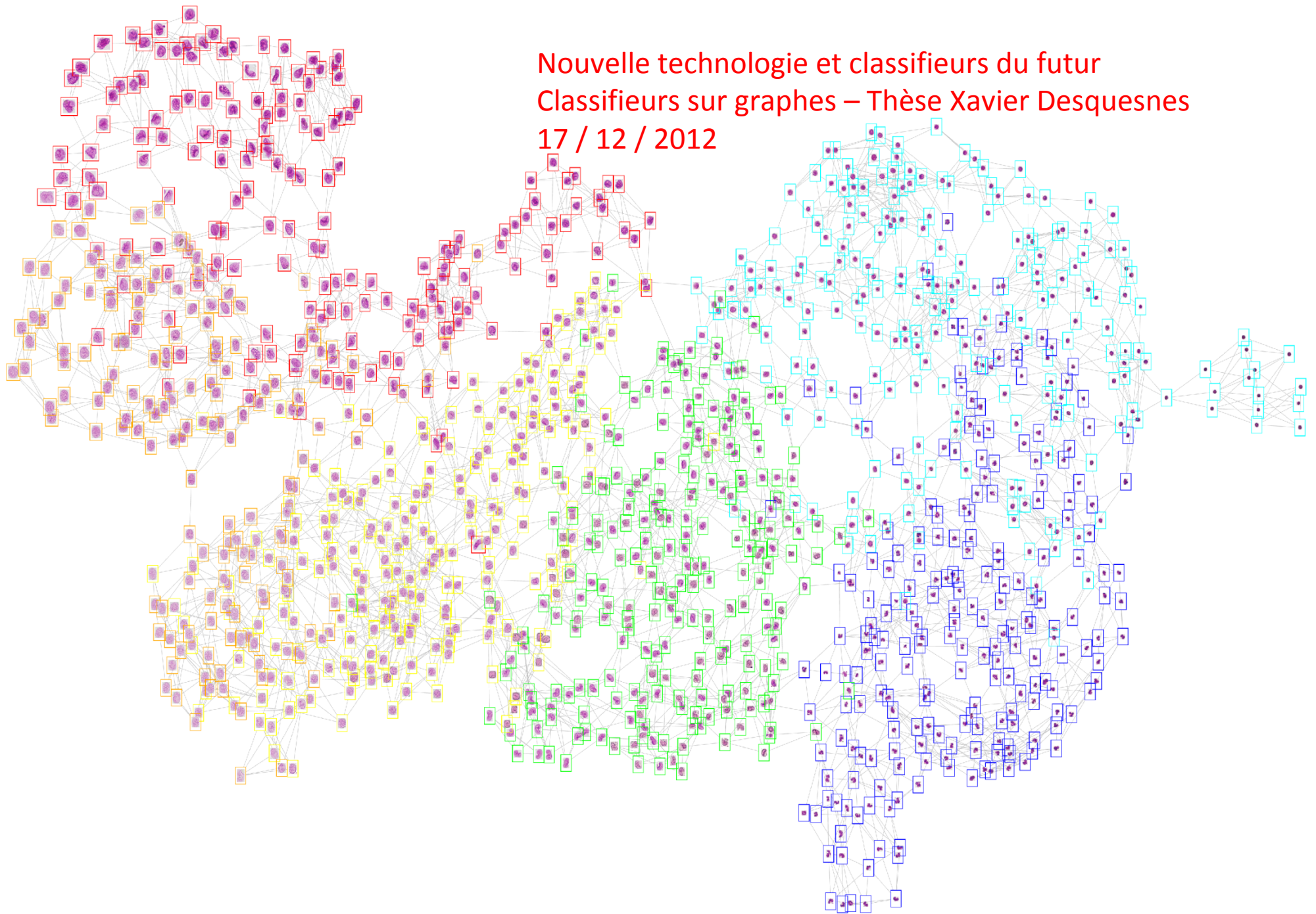


## Utiliser les enseignements et les résultats du Programme VALTRYCYT pour:

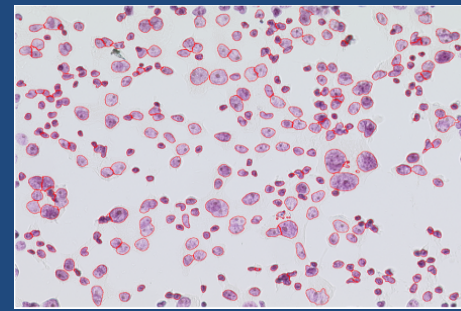
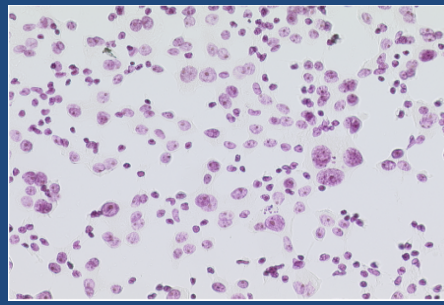
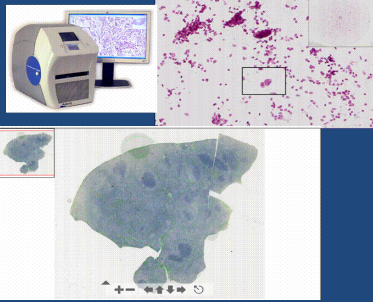
- Développer le diagnostic précoce dans le domaine d'autres applications en cyto et en histopathologie interactive.
- Poursuivre la validation vers des études anatomo-cliniques à plus grande échelle impliquant des équipes de pathologistes.
- Favoriser **l'expertise internationale** par l'échange en temps réel de cas triés.
- Aide à la création de **bases de référence** pour les différentes pathologies.
- Appliquer la technologie des classifieurs pour le **télé-enseignement** universitaire et post-doctoral en cytopathologie clinique.
- **assistance techniques** aux utilisateurs des logiciels



Nouvelle technologie et classifieurs du futur  
Classifieurs sur graphes – Thèse Xavier Desquesnes  
17 / 12 / 2012







**ACTIVE SET**

Use Active Set

**MAGNIFYING GLASS**

Active

**LABELS**

Label: None

Clear

Active Set successfully loaded

plan1/C07165632-CC00186

Save reference

Display ref : EXPERT2

