

THÈSE

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat

Présentée par : BOUMAZA Karima

Intitulée :

Détection et Estimation de Mouvement dans une Séquence d'Images Microscopiques : Application à l'Analyse des Spermatozoïdes Humains

Faculté : *Faculté de Génie Electrique*
Département : *Electronique*
Domaine : *Sciences et Technologies*
Filière : *Electronique*
Intitulé de la Formation : *Systèmes Intelligents et Robotique (SIR)*

Devant le Jury Composé de :

| <i>Membres de Jury</i> | <i>Grade</i> | <i>Qualité</i> | <i>Domiciliation</i> |
|------------------------|--------------|----------------|----------------------|
| Mr. BOUGHANMI Nabil | Professeur | Président | USTO-MB |
| Mr. LOUKIL Abdelhamid | Professeur | Encadrant | USTO-MB |
| Mr. BETTAHER Salim | Professeur | | USTO-MB |
| Mr. ZOUAGUI Tarik | Professeur | | USTO-MB |
| Mr. MERAH Mostefa | M.C.A. | Examineurs | U-Mostaganem |
| Mme. ZIGH Ehlem | M.C.A | | INTTIC - Oran |

Année Universitaire : 2020/2021

*Aux personnes qui me sont les plus chères au monde ;
Mes parents à qui je dois d'être là et à qui je dois
mon éducation et ma réussite ;
A mes sœurs et mon frère ;
A mes grands-parents.*

Remerciements

Le doctorat a été pour moi l'opportunité de satisfaire mon désir de toujours apprendre et de rendre utile tout ce que j'ai appris. Venant du domaine de l'informatique, j'ai intégré le Laboratoire des Systèmes Intelligents et Robotique d'Oran (LARES1) où j'ai entamé une thèse qui était faite sur mesure pour moi. Le chemin était long et ardu, mais l'expérience en valait la peine d'être vécue.

En premier lieu, je tiens à exprimer mon entière reconnaissance à mon directeur de thèse, Professeur Abdelhamid LOUKIL, pour sa confiance, sa patience et son soutien continu. Ses compétences scientifiques et sa grande qualité humaine m'ont beaucoup appris.

Je remercie Professeur Assia BOUALEM Docteur Biologiste pour son dévouement, son investissement et son soutien sur le plan scientifique aussi bien que moral.

Je souhaite remercier Professeur Nabil BOUGHANMI, qui m'a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Je tiens aussi à remercier Pr Salim BETTAHAR, Pr Tarik ZOUAGUI, Dr. Mostefa MERAH et Dr. Ehlem ZIGH, qui ont accepté d'examiner ce travail.

Je ne saurais passer sous silence l'apport inestimable de mes parents, mes sœurs, mon frère et de toute ma famille qui m'a soutenue durant mes années de thèse. Sabrina BELHADJ, rien n'aurait été possible sans toi, tu m'as épaulée, encouragée, voire supportée ; tu as été la première à partager les moments difficiles et les moments de joie.

Mes remerciements les plus chaleureux vont à ma chère amie Nebia BENTABET pour son soutien inconditionnel aussi bien moral que psychologique. Les mots manquent pour remercier à leur juste valeur Meriem AARIZOU et Hakima DERMACHE pour leur énorme soutien. Une mention particulière à Mr Mehdi GUERFA. Mes sincères remerciements vont aux membres du LARES1, particulièrement Khadidja BOUCHENGUA, Reda HANIFI, Salah ALHAITHAMI et Okba BEKHELIFI.

Table de matières

| | |
|---|----|
| INTRODUCTION GENERALE..... | 1 |
| 1. Contexte de la thèse..... | 2 |
| 2. Problematique..... | 3 |
| 3. Organisation de la these et contributions | 4 |
| Chapitre I :..... | 6 |
| I.1 Introduction..... | 7 |
| I.2 L’infertilité chez les humains..... | 7 |
| I.2.1 Définition | 7 |
| I.2.2 L’infertilité masculine..... | 8 |
| I.2.3. Statistiques sur la fertilité dans le monde | 8 |
| I.2.4. Techniques de traitement de l’infertilité | 8 |
| a) L’insémination artificielle (IA)..... | 9 |
| b) La Fécondation In Vitro (FIV)..... | 9 |
| c) L’injection du spermatozoïde dans le cytoplasme de l’ovocyte (ISCI) :..... | 10 |
| I.3 LE diagnostic de la fertilité masculine..... | 11 |
| I.3.1 La spermatogénèse..... | 11 |
| I.3.2 Le sperme humain..... | 11 |
| I.3.3 Physiologie des spermatozoïdes humain | 12 |
| I.3.4 Pathophysiologie du sperme humain | 13 |
| I.3.5 Moyen d’exploration de l’infertilité masculine | 13 |
| a) Examen de sperme | 14 |
| b) Le spermogramme et son interprétation | 15 |
| c) Le Spermocytogramme | 18 |
| I.3.6 La morphologie du sperme | 18 |
| I.4 Outils d’analyse du spermogramme..... | 19 |
| I.4.1 Analyse manuelle du sperme | 19 |
| I.4.2 Analyse automatique du sperme : Le système ‘CASA’ | 21 |
| I.5 Conclusion | 21 |

| | |
|---|----|
| Chapitre II : | 21 |
| II.1 Introduction | 22 |
| II.2 Le concept d'analyse du sperme assiste par ordinateur | 22 |
| II.2.1 Procédure d'enregistrement des séquences vidéo microscopiques | 23 |
| a) La préparation des échantillons de sperme avant l'enregistrement : | 23 |
| b) Le processus d'enregistrement des vidéos | 23 |
| II.2.2 Description de la chambre de comptage | 25 |
| II.3 Travaux sur l'analyse du sperme dans la littérature | 26 |
| II.3.1 Synthèse des travaux antérieurs | 26 |
| II.3.2 Travaux sur la segmentation des spermatozoïdes | 30 |
| a) Segmentation par seuillage | 30 |
| b) Segmentation par opérations morphologiques | 31 |
| c) Segmentation par détection de contours | 33 |
| II.3.3 Travaux sur la détection de mouvement des spermatozoïdes | 34 |
| II.4 ARCHITECTURE FONCTIONNELLE D'UN SYSTEME CASA | 34 |
| II .4.1 Détection des spermatozoïdes | 35 |
| a) Module de prétraitement - Réduction du bruit | 35 |
| b) Module de segmentation | 36 |
| c) Module d'extraction de caractéristiques | 36 |
| d) Module de classification | 36 |
| II.4.2 Mesure et estimation des paramètres du sperme | 36 |
| II.5 Description de quelques casa commercialisés | 37 |
| II.6 CONCLUSION | 39 |
| | |
| Chapitre III : | 40 |
| III.1 Introduction | 41 |
| III.2 Architecture fonctionnelle du CASA proposé | 41 |
| III.2.1 Le module de prétraitement | 41 |
| III.2.1.1 Choix d'un espace des couleurs robuste | 43 |
| III.2.1.2 Types de bruit présent dans les images microscopiques | 43 |

| | |
|--|----|
| III.2.1.3 Techniques de réduction du bruit | 44 |
| III.2.2 Le module de segmentation..... | 50 |
| III.2.2.1 La segmentation en régions basée sur la ligne de partage des eaux..... | 51 |
| III.2.2.2 La segmentation en contours | 53 |
| III.2.2.3 Remplissage des trous (Hole Filling) | 54 |
| III.2.3 Le module de reconnaissance des spermatozoïdes et évaluation de la concentration | 55 |
| III.2.3.1 Extraction caractéristiques discriminantes | 55 |
| III.2.3.2 Le choix du classifieur | 56 |
| III.2.3.3 Evaluation de la concentration des spermatozoïdes | 61 |
| III.2.5 Le module d'évaluation de la motilité et du suivi de trajectoires | 61 |
| III.2.5.1 La détection du mouvement d'un spermatozoïde | 62 |
| III.2.5.2 Le tracking (ou suivi) des spermatozoïdes mobiles : | 63 |
| III.2.5.3 Mesure des paramètres cinétiques de nage des spermatozoïdes | 65 |
| III.3 Conclusion..... | 67 |
| | |
| Chapitre IV : | 69 |
| IV.1 Introduction..... | 70 |
| IV.2 Outils d'expérimentation..... | 70 |
| IV.2.1 La plateforme matérielle et logicielle utilisée..... | 70 |
| IV.2.2 Bases de données exploitées | 70 |
| a) La première base de données (Data-Base 1)..... | 70 |
| b) La deuxième base de données (Data-Base 2) | 71 |
| IV.3 Résultats du module de pretraitement | 71 |
| IV.3.1 Métriques d'évaluation | 71 |
| a) L'évaluation visuelle des résultats | 71 |
| b) Le Rapport Signal sur Bruit de Crête (PSNR : peak signal to noise ratio)..... | 72 |
| c) Indice de similarité structurelle (SSIM)..... | 72 |
| IV.3.2 Résultats expérimentaux | 73 |
| a) Résultats d'implémentation sur des images de la Data-Base 1 : | 73 |
| b) Résultats d'implémentation sur des images de la Data-Base 2 : | 78 |

| | |
|--|----|
| c) Discussion des résultats de comparaison entre les techniques de prétraitement implémentées et choix de la technique optimale pour notre CASA: | 82 |
| IV.4 Résultats du module de segmentation | 85 |
| IV.4.1 Résultats et discussions | 85 |
| IV.5 Résultats du module de reconnaissance et Evaluation de la concentration | 88 |
| IV.5.1 Etiquetage de la vérité terrain par les experts : | 89 |
| IV.5.2 Les métriques d'évaluation utilisées | 89 |
| IV.5.3 Initialisation, configuration du classifieur et résultats | 90 |
| IV.5.4 estimation de la valeur de la concentration du sperme | 93 |
| IV.6 Résultats du module d'évaluation de la motilité et du suivi | 94 |
| IV.6.1 Résultats de l'évaluation de la motilité et du suivi | 95 |
| IV.7 Evaluation du temps de traitement de notre CASA | 98 |
| IV.8 CONCLUSION | 99 |
| CONCLUSION GENERALE | 99 |

Liste des figures

| | | |
|---------------|---|----|
| Figure I.1 | Pourcentages de cas d'infertilité masculine par région. | 09 |
| Figure I.2 | Phases du déroulement de la spermatogénèse. | 11 |
| Figure I.3 | Anatomie de spermatozoïde humain. | 12 |
| Figure I.4 | Représentation schématique des anomalies chromosomiques possibles. | 18 |
| Figure I.5 | Chambre de comptage nommée« Theimproved Neubauer haemocytometer ». | 19 |
| Figure II.1 | Sperme lavé sous agrandissement (magnitude $\times 200$). | 24 |
| Figure II.2 | Sperme non lavé sous agrandissement (magnitude $\times 200$). | 24 |
| Figure II.3 | Sperme sous agrandissement (magnitude $\times 400$) | 24 |
| Figure II.4 | Augmentation des publications liées à le CASA pour chaque période de cinq ans entre 1988 et 2017. | 26 |
| Figure II.5 | Architecture fonctionnelle d'un système CASA. | 34 |
| Figure II.6 | Etapes de détection des spermatozoïdes dans un CASA. | 35 |
| Figure II.7 | Analyseur de sperme Hamilton-Thorne.. | 38 |
| Figure II.8 | Analyseur de qualité du sperme (CFT-9200) . | 38 |
| Figure III.1 | Architecture de notre CASA proposé. | 42 |
| Figure III.2 | Principe de Décomposition de l'image en ondelettes. | 50 |
| Figure III.3 | La décomposition en ondelettes discrettes d'approximation et de détails. | 51 |
| Figure III.4 | Organigramme de segmentation du CASA proposé | 51 |
| Figure III.5 | Illustration d'algorithme ligne de partage des eaux. | 52 |
| Figure III.6 | Segmentation d'un échantillon d'urologie. | 53 |
| Figure III.7 | Illustration de l'effet d'une opération de remplissage de trous. | 55 |
| Figure III.8 | Les deux caractéristiques de l'ellipse englobante | 57 |
| Figure III.9 | Séparation linéaire dans un espace à deux dimensions. | 59 |
| Figure III.10 | Exemple d'hyperplans à séparation linéaire. | 60 |
| Figure III.11 | Cas non linéairement séparables. | 60 |
| Figure III.12 | L'espace de re-description . | 61 |
| Figure III.13 | Détection de spermatozoïdes mobiles à l'aide de la technique de différenciation à trois images. | 63 |
| Figure III.14 | Le cycle du filtre de Kalman . | 64 |
| Figure III.15 | Illustration des paramètres dynamiques de la nage des spermatozoïdes. | 66 |

| | | |
|--------------|---|----|
| Figure IV.1 | Bruitage des images de la Data-Base 1. | 73 |
| Figure IV.2 | Résultats du prétraitement sur les images bruitées par « bruit de chatoiemment » de la Data-Base 1. | 74 |
| Figure IV.3 | Résultats du prétraitement sur les images bruitées par « bruit mixte Poisson-Gaussien » de la Data-Base 1. | 75 |
| Figure IV.4 | Représentation graphique des valeurs du PSNSR (a) et du SSIM (b) relatives à l'image1 (Data-Base1) bruitées avec les deux types de bruits et traitées par différentes techniques de prétraitement | 77 |
| Figure IV.5 | Bruitage des images de la Data-Base 2 | 78 |
| Figure IV.6 | Résultats du prétraitement sur les images bruitées par « bruit de chatoiemment » de Data-Base 2. | 79 |
| Figure IV.7 | Résultats du prétraitement sur les images bruitées par « bruit mixte Poisson-Gaussien » de la Data-Base 2. | 80 |
| Figure IV.8 | Représentation graphique des valeurs du PSNSR (a) et du SSIM (b) relatives à l'image1 de la Data-Base 2 bruitée avec les deux types de bruits et traitée par différentes techniques de prétraitement. | 82 |
| Figure IV.9 | Module du prétraitement retenu pour notre CASA. | 83 |
| Figure IV.10 | Premier exemple d'une image de la Data-Base 1 traitée par l'approche proposée. | 83 |
| Figure IV.11 | Deuxième exemple d'une image de la Data-Base 1 traitée par l'approche proposée. | 84 |
| Figure IV.12 | Troisième exemple d'une image de la Data-Base 1 traitée par l'approche proposée. | 84 |
| Figure IV.13 | Résultats de détection de contours par les deux détecteurs Canny et Sobel. | 85 |
| Figure IV.14 | 1er exemple de segmentation d'une image de la Data-Base 1 par la technique proposée. | 86 |
| Figure IV.15 | 2ème exemple de segmentation d'une image de la Data-Base 1 par la technique proposée. | 87 |
| Figure IV.16 | 3ème exemple de segmentation d'une image de la Data-Base 1 par la technique proposée. | 88 |
| Figure IV.17 | Zoom de 60% Sur les images segmentées par la méthode proposée. | 88 |
| Figure IV.18 | Comparaison entre les valeurs de la précision de classification pour différents noyaux et différentes valeurs du Cross. | 91 |

| | | |
|--------------|---|----|
| Figure IV.19 | Courbe ROC obtenue pour le classifieur SVM utilisé avec un noyau de type RBF. | 92 |
| Figure IV.20 | Phase de reconnaissance des spermatozoïdes – Exemple d’image n°1. | 92 |
| Figure IV.21 | Phase de reconnaissance des spermatozoïdes – Exemple d’image n°2. | 93 |
| Figure IV.22 | Représentation graphique des valeurs de nombre de spermatozoïdes obtenues par les trois experts (méthode manuelle) et du système proposé (méthode automatique). | 94 |
| Figure IV.23 | Estimation de la motilité. | 96 |
| Figure IV.24 | Représentation graphique des valeurs de nombre de spermatozoïdes mobiles obtenues par les trois experts (méthode manuelle) et du système proposé (méthode automatique). | 97 |
| Figure IV.25 | Exemple de six (06) images de traçage de trajectoire des spermatozoïdes. | 98 |

Liste des tableaux

| | | |
|--------------|---|----|
| Tableau I.1 | Valeurs de référence standards pour le sperme fournis par l’OMS pour l’année 2010. | 14 |
| Tableau I.2 | Anomalies du spermogramme fournis par l’OMS | 18 |
| Tableau II.1 | Exemple des chambres de comptage. | 25 |
| Tableau II.2 | Résumé des travaux de recherche pertinents pour la segmentation et l’identification des spermatozoïdes | 27 |
| Tableau IV.1 | Description de la première BD | 71 |
| Tableau IV.2 | Les valeurs du PSNR et du SSIM obtenues lors des tests des différentes techniques de prétraitement et ce pour 5 différentes d’images prises de la Data-Base 1 puis bruitées par le bruit « Speckle » | 76 |
| Tableau IV.3 | Les valeurs du PSNR et du SSIM obtenues lors des tests des différentes techniques de prétraitement et ce pour 5 différentes d’images prises de la Data-Base 1 puis bruitées par le bruit « Mixte Poisson-Gaussien » | 77 |
| Tableau IV.4 | Valeurs du PSNR et du SSIM obtenues lors des tests des différentes techniques de prétraitement et ce pour 5 différentes d’images prises de Data-Base 2 puis bruitées par le « Bruit Speckle » | 81 |
| Tableau IV.5 | Valeurs du PSNR et du SSIM obtenues lors des tests des différentes techniques de prétraitement et ce pour 5 différentes d’images prises de la Data-Base 2 puis bruitées par le bruit « mixte Poisson-Gaussien » | 81 |
| Tableau IV.6 | Nombre de spermatozoïdes comptés manuellement par les trois experts (méthode manuelle) et automatiquement par notre système CASA. | 93 |
| Tableau IV.7 | Valeurs de motilité obtenues par les trois experts (méthode manuelle) et par le système CASA proposé (méthode automatique) | 95 |
| Tableau IV.8 | Valeur du temps de traitement (en secondes) pour chacun des cinq (05) modules que comporte notre système CASA / Temps d’analyse manuelle | 98 |

Liste des abréviations

| | |
|-------|--|
| ALH | Amplitude of L ateral H ead displacement |
| AMP | Assisted M edical P rocreation |
| AUC | Area U nder C urve |
| AWAS | Adaptive W indow A verage S peed |
| BD | D ata- B ase |
| CASA | Computer Assisted S emen A nalysis |
| CE | Conformité E uropéenne |
| CLAHE | Contrast L imited A daptive H istogram E qualization |
| DCT | D iscrete C osine T ransform |
| EM | E xpectation M aximisation |
| EQM | E rreur Q uadratique M oyenne |
| FIV | F écondation I n V itro |
| FN | F alse N egative |
| FP | F alse P ositive |
| GVF | G radient V ector F low |
| HE | H istogram E galization |
| HH | H igh- H igh |
| HL | H igh- L ow |
| HOG | H istogram of O riented G radients |
| HSV | H ue S aturation V alue |
| IAC | Insémination A rtificielle avec les spermatozoïdes du C onjoint |
| IAD | Insémination A rtificielle avec les spermatozoïdes d'un D onneur |
| ICSI | I ntra- C ytoplasmic S perm I njection |
| IM | I mmobile |
| IUT | I ntra- U terine I nsemination |
| LBP | L ocal B inary P atterns |
| LH | L ow- H igh |
| LIN | L inearity |

| | |
|------|--|
| LL | Low-Low |
| MRF | Markov Random Field |
| MSE | Mean Square Error |
| NP | No Progressive motility |
| OAT | Oligo-Asthéno-Tératozoospermie |
| OMS | Organisation Mondiale de la Santé |
| PR | Progressive Motility |
| PSNR | Peak Signal-to-Noise Ratio |
| RBF | Radial Basis Function |
| RdF | Reconnaissance des Fomres |
| ROC | Receiver Operating Characteristic |
| ROI | Region Of Interest |
| SRA | Sperm Reproduction Assisted |
| SSIM | Structural Similarity Index Metric |
| SURF | Speeded Up Robust Features |
| SVM | Support Vector Machines |
| TN | True Negative |
| TOD | Transformée en Ondelettes Discrètes |
| TP | True Positive |
| TZI | Terato-Zoospermia Index |
| VCL | Curvilinear Velocity |
| VSL | Straight-Line Velocity |
| VT | Vérité Terrain |

Abstract

Biomedical image processing has expanded spectacularly; it is an interesting field of research that has attracted many skills such as applied mathematics, computer science, engineering sciences, biology and even medicine. Recently, these techniques are increasingly used for the detection of male infertility, which has become a problem for couples. The diagnosis of male infertility consists of evaluating sperm parameters such as sperm morphology, concentration, motility and kinetic parameters. The dominant method today for this evaluation is the manual method, it is subjective and laborious. For this reason, the CASA system was introduced, it is used to estimate and evaluate the parameters of a sperm in a microscopic video sequence using image processing techniques. The general problematic of this thesis is the contribution to the improvement of CASA systems by developing a sperm detection technique as well as another to estimate the parameters of concentration, motility and type of motility in an image sequence.

Microscopic images suffer from many limitations (the size, the contrast, ... etc.). However, the approach we propose started with the pre-processing step, we implemented an algorithm combining spatial filters and discrete wavelet transformation in order to eliminate speckle and mixed Poisson-Gaussian noise that exists in the image. Then, for sperm detection, a hybrid approach is proposed using a combination of segmentation techniques. We used the watershed algorithm, which is a segmentation by region, and the Sobel filter, which is a segmentation by edge. Then, for sperm recognition among noise and debris, we used the geometric characteristics of the sperm head which is similar to an ellipse and the SVM as a classifier; they allowed us to define the sperm concentration. Finally, the difference between successive images is applied for the detection of motile spermatozoa followed by the Kalman filter to estimate the trajectory of a spermatozoon. This gives important information to doctors for diagnosis and fertility assessment. Our system has been tested on microscopic videos of human sperm; its performance is analyzed in terms of speed, accuracy and complexity. The results obtained in the experiments are very promising compared to those obtained through traditional evaluation, which is the most widely used and approved in laboratories.

Keywords

Infertility, CASA, Human Sperm, Motility, Concentration, Sobel Filter, Discrete Wavelet Transform, Poisson-Gaussian Noise, Watershed Algorithm, SVM, Kalman Filter.

ملخص

تطورت تقنيات معالجة الصور الطبية بشكل مذهل فقد أصبحت مجالاً بحثياً مثيراً للاهتمام إذ اجتذبت مهارات عدة كالرياضيات التطبيقية، علوم الكمبيوتر، العلوم الهندسية، البيولوجيا وحتى الطب. فقد عرفت هذه التقنيات في الآونة الأخيرة استخدام متزايد للكشف عن خصوبة الذكور بسبب العقم الذي أصبح يشكل كابوساً للأزواج. يتضمن تحديد خصوبة الذكور تقدير خصائص الحيوانات المنوية مثل الشكل، التركيز، الحركة ونوع مسار الحيوانات المنوية المتحركة والطريقة السائدة اليوم لهذا التقدير هي الطريقة اليدوية التي تتصف بالذاتية (الغير الموضوعية) والمتعبة لهذا السبب تم تقديم نظام CASA. يهدف هذا النظام لتقدير وتقييم خصائص الحيوانات المنوية باستخدام فيديو مجهري وتقنيات معالجة الصور. تتمثل الاشكالية العامة لهذه الرسالة في المساهمة في تحسين أنظمة CASA من خلال تطوير هذه التقنية للكشف عن الحيوانات المنوية بالإضافة إلى تقنية أخرى لتقدير خاصيات التركيز والحركة ونوع الحركة في سلسلة من الصور المجهرية للسائل المنوي.

نظراً لسليبات الصورة المجهرية (الحجم ، التباين ، ... إلخ)، بدأنا طريقنا المقترحة بخطوة تقليل الضوضاء وذلك ببرمجة خوارزمية مبنية بواسطة المرشحات المكانية والموجات من أجل التخلص من ضجيج Poisson-Gaussian المختلط الموجود في الصورة. بعد ذلك و من أجل الكشف الحقيقي عن الحيوانات المنوية ، تم اقتراح نهج هجين باستخدام مجموعة من تقنيات التجزئة ، كما استخدمنا خوارزمية "مشاركة المياه" وهي تقنية تجزئة خاصة بتحديد المنطقة ، ومرشح "سوبيل" وهو تقنية تجزئة خاصة بتحديد المحيط. الخطوة الموالية تهتم بالتعرف على الحيوانات المنوية وتمييزها من الضوضاء فقد استندنا إلى استخدام الخصائص الهندسية للقطع الناقص لرأس الحيوانات المنوية ومصنف SVM مما سمح بتحديد تركيز الحيوانات المنوية. أخيراً بتطبيق الفرق بين الصور المتتالية كشفنا عن الحيوانات المنوية المتحركة ثم طبقنا مرشح "كالمان" لتقدير مسار الحيوان المنوي الذي يعطي معلومات مهمة للأطباء أثناء تشخيص وتقييم الخصوبة. تم اختبار نظامنا على مقاطع فيديو مجهري للسائل المنوي البشري وتم تحليل أدائه من حيث السرعة والدقة والتعقيد. النتائج التي تم الحصول عليها خلال التجارب واعدة للغاية مقارنة بالنتائج التي تم الحصول عليها عن طريق التقويم التقليدي الذي يعد الأكثر استخداماً في المختبرات.

الكلمات المفتاحية:

الخصوبة، العقم، CASA، الحيوانات المنوية البشرية ، الحركة ، التركيز ، مرشح سوبيل ، Poisson-Gaussian، خوارزمية مشاركة الماء ، SVM، مرشح كالمان.

Résumé

Le traitement d'images biomédicales s'est développé de manière spectaculaire ; c'est un domaine de recherche intéressant qui a attiré de nombreuses compétences telles que les mathématiques appliquées, l'informatique, les sciences de l'ingénieur, la biologie et même la médecine. Récemment, ces techniques sont de plus en plus utilisées pour la détection de l'infertilité masculine, qui est devenue un problème pour les couples. Le diagnostic de l'infertilité masculine consiste à évaluer les paramètres du sperme tels que la morphologie, la concentration, la motilité et les paramètres cinétiques. La méthode dominante aujourd'hui pour cette évaluation est la méthode manuelle, elle est subjective et laborieuse. Pour cette raison, le système CASA a été introduit, il est utilisé pour estimer et évaluer les paramètres d'un sperme dans une séquence vidéo microscopique en utilisant des techniques de traitement d'image. La problématique essentielle de cette thèse est la contribution à l'amélioration de ces systèmes CASA en développant une technique de détection des spermatozoïdes ainsi qu'une autre pour estimer les paramètres de concentration, de motilité et le type de motilité dans une séquence d'images.

Les images microscopiques souffrent de nombreuses limitations (la taille, le contraste, ...etc.). Cependant, l'approche que nous proposons a commencé par l'étape de prétraitement, nous avons implémenté un algorithme combinant des filtres spatiaux et une transformation en ondelettes discrètes afin d'éliminer le bruit de chatoiement (Speckle noise) et le bruit mixte « Poisson-Gaussien » existant dans l'image. Ensuite, pour la détection des spermatozoïdes, une approche hybride est proposée en utilisant une combinaison de techniques de segmentation. Nous avons utilisé l'algorithme des bassins versants (Watershed), qui est une segmentation par région, et le filtre de Sobel, qui est une segmentation en contours. Ensuite, pour la reconnaissance du sperme parmi le bruit et les débris, nous avons utilisé les caractéristiques géométriques de la tête du sperme qui est similaire à une ellipse et le SVM comme classificateur ; ils nous ont permis de définir la concentration du sperme. Enfin, la différence entre les images successives est appliquée pour la détection des spermatozoïdes mobiles, suivi du filtrage de Kalman pour estimer la trajectoire d'un spermatozoïde. Cela donne des informations importantes aux médecins pour le diagnostic et l'évaluation de la fertilité. Notre système a été testé sur des vidéos microscopiques de spermatozoïdes humains ; ses performances sont analysées en termes de rapidité, précision et complexité. Les résultats obtenus dans les expériences sont très prometteurs par rapport à ceux obtenus par l'évaluation visuelle traditionnelle, qui est la plus largement utilisée et approuvée dans les laboratoires.

Mots Clés :

Infertilité, CASA, Sperme humain, Motilité, Concentration, Filtre de Sobel, Transformée en ondelettes discrètes, Bruit « Poisson-Gaussien », Algorithme Ligne de partage des eaux, SVM, Filtre de Kalman.

Production Scientifique de la doctorante :

1. Journaux internationaux

- a) BOUMAZA, Karima, LOUKIL, Abdelhamid, *Computer Assisted Analysis of Human Semen Concentration and Motility*, International Journal of E-Health and Medical Communications (IJEHMC), vol 11 (4) - October-December 2020. DOI: 10.4018 /IJEHMC.
- b) BOUMAZA, Karima, LOUKIL, Abdelhamid, et AARIZOU, Kaouthar. *Automatic human sperm concentrartion in microscopic videos*. Medical Technologies Journal, 2018, vol. 2, n°4, p. 301-307.

2. Conférences internationales avec actes et comité de lecture

- a) BOUMAZA, Karima, LOUKIL, Abdelhamid, and AARIZOU, Kaouthar, *Spatial Domain Filter for Humain Sperm Microscopic Images: A Survey*, International Conference on Networking Telecommunications, Biomedical Engineering and Applications (ICNTBA), 2019.
- b) BOUMAZA, Karima, LOUKIL, Abdelhamid, and AARIZOU, Kaouthar, *Automatic Human Sperm Concentration In Microscopic Videos*, International Congress on Health Sciences and Medical Technologies (ICHSMT), 2018.
- c) BOUMAZA, Karima, LOUKIL, Abdelhamid, and AARIZOU, Kaouthar, *Computer Aided Human Sperm Motility Detection*, International Conference on Automatic Control, Telecommunications and Signals (ICATS), 2017.

INTRODUCTION GENERALE

1. CONTEXTE DE LA THESE

Le domaine du traitement d'images numériques et de la vision artificielle a connu ces dernières années un progrès fulgurant surtout avec l'augmentation de la puissance des calculateurs et le développement de nouvelles techniques de l'intelligence artificielle telles que le Deep-Learning. Actuellement, ses champs d'applications sont multiples. Sans être exhaustif, on peut citer à titre d'exemples : la robotique, la vidéosurveillance, la télédétection, la médecine, et l'aide à la conduite de véhicules.

Dans le domaine médical, l'introduction du traitement des images médicales joue un rôle de plus en plus important. L'objectif principal étant de fournir aux cliniciens une aide au diagnostic, à la planification de la thérapie et aux interventions guidées par l'image. L'un des axes qui suscite un intérêt croissant auprès des scientifiques est l'imagerie médicale microscopique où l'étude et l'analyse des cellules filmées au microscope consiste à extraire des informations et des caractéristiques relatives aux cellules d'intérêt : à partir d'images microscopiques, on peut estimer le nombre, la répartition, la forme ou la taille des particules visibles ; on peut aussi faire le tracking précis, robuste et rapide de ces cellules ; on peut même faire une classification de celles-ci selon la forme, la texture ou le mouvement.

Dans le cas de l'étude clinique de l'infertilité masculine dans un couple, les techniciens biologistes analysent visuellement (à l'œil) les images microscopiques d'un sperme en étudiant les paramètres d'un échantillon de spermatozoïdes tels que la densité, la morphologie, la motilité, le suivi et la classification des spermatozoïdes. Dans le cas où l'infertilité sévère est confirmée, le couple peut être orienté vers une clinique pour choisir la technique de procréation assistée (SRA) : le sperme du partenaire ou du donneur est analysé pour sélectionner le meilleur spermatozoïde candidat pour la fécondation in vitro (FIV), l'injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) ou l'insémination intra-utérine (IUI). L'analyse du sperme peut également indiquer la présence de toxines ou l'apparition d'autres maladies.

Si on l'élargit au domaine de toute la faune naturelle, l'analyse du sperme est de plus en plus pratiquée par les vétérinaires pour l'élevage industriel ou l'élevage commercial.

Aujourd'hui, la méthode prédominante de l'étude du sperme humain dans les cliniques de fertilité est basée sur l'analyse visuelle d'un échantillon de sperme vue au microscope. Cette étude est à la fois laborieuse et subjective : ceci se traduit par des résultats de spermogrammes très différents entre les laboratoires pour le même échantillon de sperme ainsi que des délais d'analyse assez importants.

Afin de minimiser la variabilité des résultats d'un laboratoire à l'autre, des protocoles standards ont été développés pour rendre la routine de l'analyse du sperme plus objective et la plus reproductible possible. Le plus remarquable de ces protocoles est fourni par le manuel rédigé par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour l'examen et le traitement de sperme humain. Malgré la disponibilité de tels protocoles, les différences entre les laboratoires persistent toujours.

Dans la même optique, afin de rendre l'analyse du sperme la plus objective, les chercheurs ont voulu minimiser au maximum l'intervention de l'opérateur humain dans ce processus d'analyse en essayant d'automatiser le procédé par l'introduction, au milieu des années 1980, de systèmes d'analyse du sperme assisté par ordinateur (CASA - Computer Assisted Semen Analysis). Ces systèmes utilisent des ordinateurs pour capturer numériquement une séquence vidéo à partir d'un microscope et appliquent des algorithmes de traitement d'images numériques pour détecter automatiquement les spermatozoïdes et estimer leurs paramètres. De plus, ces systèmes arrivent à reconstruire les voies de nage (trajectoires) des spermatozoïdes sur plusieurs images et ainsi permettre la mesure de paramètres cinétiques et dynamiques qui étaient impossibles à mesurer visuellement par un observateur humain.

Malheureusement, 40 années plus tard, les prix des CASA demeurent toujours prohibitifs et n'ont pas réussi à remplacer l'analyse manuelle du sperme. On estime actuellement que les instruments CASA sont utilisés dans moins de 2% des laboratoires traitant le sperme humain. Cependant, de nouvelles études sont nécessaires pour rendre ces systèmes plus robustes, plus précis et de plus assez accessibles aux biologistes.

L'objectif de cette thèse est de contribuer au développement d'un système CASA permettant d'automatiser les procédures de mesure de la concentration, de la motilité ainsi que des facteurs cinétiques des spermatozoïdes à partir de l'analyse d'une séquence vidéo microscopique d'un échantillon de sperme en combinant des techniques d'intelligence artificielle et des techniques de traitement d'images.

2. PROBLEMATIQUE

Le nombre d'études publiées par la communauté scientifique ayant pour objectif l'automatisation de la procédure de l'analyse du sperme humain est beaucoup plus faible que celle réalisées sur le sperme des animaux. En effet, ce déséquilibre est dû au fait que l'étude du sperme humain demeure difficile et nécessitante beaucoup plus de rigueur (Amann et al.,2014).

Les problèmes rencontrés lors de l'analyse du sperme humain peuvent se résumer à :

- La présence de débris et d'impuretés de formes très hétérogènes avec les spermatozoïdes dans un éjaculat de sperme rend très difficile leur séparation ;
- Le faible contraste et la présence de bruits non uniformes inhérentes aux images microscopiques capturées par les microscopes à contraste de phase nécessitent des prétraitements beaucoup plus robustes que les méthodes classiques ;
- La non disponibilité de bases de données publiques, même payantes, d'images et de vidéos de sperme rend la comparaison des différentes techniques implémentées difficiles.

3. ORGANISATION DE LA THESE ET CONTRIBUTIONS

La thèse présentée est articulée autour de quatre chapitres comme suit :

- Nous commençons par une introduction générale pour montrer la thématique étudiée et situer la problématique traitée ;
- Dans le premier chapitre, nous décrivons le contexte médical de notre projet en rappelant les différentes définitions et terminologies utilisées dans le domaine médical comme l'infertilité masculine ou la physiologie des spermatozoïdes humains. Nous y présentons aussi la procédure de diagnostic de la fertilité masculine et les outils d'analyse du sperme.
- Le deuxième chapitre est consacré à la définition du concept d'analyse du sperme assisté par ordinateur. Nous avons présenté un état de l'art assez conséquent sur l'évolution des techniques d'automatisation de l'analyse du sperme humain ou animal tant pour l'étape de segmentation que de l'étape de détection du mouvement. Nous avons aussi présenté l'architecture générique fonctionnelle d'un système CASA. A la fin de ce chapitre, nous avons énuméré quelques CASA commercialisés.
- Dans le troisième chapitre, nous commençons par présenter le synoptique général du système CASA réalisé. Après cela, nous développons chacun des modules de ce système qui sont : le module de prétraitement, le module de détection, le module d'extraction de caractéristiques et de classification, et enfin le module de mesure de motilité et des paramètres cinétiques.
- Le quatrième et dernier chapitre détaille les résultats de détection et estimation de mouvement des spermatozoïdes par la méthode proposée. Pour un début, on introduit les bases de données utilisées dans ce travail. Ensuite, les résultats obtenus de différentes expérimentations de chaque étape de notre système sont abordés et discutés. Enfin, nos résultats expérimentaux en termes de précision de classification ont été comparés aux méthodes existantes et à la méthode dominante dans les laboratoires utilisant les mêmes bases de données.
- On termine notre thèse par une conclusion générale, nous repositionnons l'ensemble de nos développements en regard de l'objectif initial de l'étude : "La détection et l'estimation automatique des paramètres d'un sperme humain à partir d'une séquence d'images

microscopique ". Nous résumons à ce stade les principaux résultats de notre étude et nous abordons aussi une discussion sur les perspectives de travail qui découlent de cette thèse.

Chapitre I :

GENERALITES SUR L'INFERTILITE MASCULINE

I.1 INTRODUCTION

Dans ce chapitre, nous allons décrire de manière succincte le contexte médical sur lequel se base notre projet de doctorat. Nous commençons par définir ce que c'est que l'infertilité chez l'homme puis nous exposerons les différentes pathologies qui lui sont associées et la manière de les diagnostiquer. On passera ensuite à la description physiologique et morphologique du spermatozoïde. On présentera la procédure d'analyse des caractéristiques du sperme, communément appelée « spermogramme » ; enfin on fera une brève description fonctionnelle d'un système d'aide à l'analyse des spermatozoïdes, appelé CASA.

I.2 L'INFERTILITE CHEZ LES HUMAINS

I.2.1 DEFINITION

L'infertilité est définie comme étant l'absence de grossesse après 12 mois de rapports sexuels non protégés (Brzakowski et al., 2009). Nous présentons ci-dessous, un ensemble de définitions qui s'avèrent nécessaires dans le but d'enlever quelques ambiguïtés :

- *La fertilité* : définit l'aptitude à concevoir un enfant (aptitude à procréer).
- *La fécondité* : représente le fait d'avoir eu un enfant (avoir déjà procréé).
- *L'infécondité* : on dit qu'un couple est infécond tant qu'il n'a pas eu d'enfants de manière volontaire ou involontaire. Cet état peut être :
 - o Primaire : si la femme n'a jamais été enceinte.
 - o Secondaire : qui survient après une grossesse que celle-ci ait abouti ou non à la naissance d'un enfant vivant.
- *La stérilité* : ce terme doit être réservé à l'incapacité totale et définitive de concevoir un enfant. Le diagnostic de la stérilité ne peut être demandé que devant une cause évidente et non curable d'infertilité. Dans le monde, trois à quatre pour cent (3 à 4 %) des couples sont stériles (Schlosser et al. 2007).

Actuellement, on préfère utiliser le terme '*infertilité*' au lieu de '*stérilité*' du fait que ce dernier est péjoratif et signifie qu'aucune thérapeutique curative n'est possible (Honigberg et al., 2000) et ce, en raison des dernières avancées dans le domaine du traitement de l'infertilité et les espoirs qui en découlent.

I.2.2 L'INFERTILITE MASCULINE

La notion d'infertilité masculine renvoie à l'ensemble des pathologies et troubles touchant l'appareil reproducteur de l'homme et ainsi responsable de l'infécondité involontaire du couple.

L'infertilité masculine est l'impossibilité pour un homme d'assurer une procréation du fait d'une défaillance des paramètres spermatiques, ce qui établit de façon significative la différence biologique entre population fertile et infertile (Pontonnier et Bujan, 1993).

On différencie deux types d'infertilité masculine :

- *L'infertilité primaire*, pour laquelle l'homme n'a jamais été responsable d'une grossesse.
- *L'infertilité secondaire*, pour laquelle l'homme a été responsable d'une grossesse qu'elle qu'en soit l'issue, avec la partenaire présente ou autre.

L'altération de la qualité du sperme, observée depuis plusieurs décades, soulève le problème du 'déclin de la fertilité des hommes'. Un homme des années 2000 produit deux fois moins de spermatozoïdes que son propre père, soit une diminution de 2 % par an (Slama et al., 2006). Ces proportions sont variables selon les pays. Les variations physiologiques, génétiques, environnementales, et le mode de vie (alimentation, tabac, alcool, ...) semblent affecter la production du sperme (Sharpe et Franks, 2002). Le diagnostic de l'infertilité masculine se fait selon deux examens clés qui sont : le *spermogramme* et le *spermocytogramme* (Ounis Leyla, 2014).

I.2.3. STATISTIQUES SUR LA FERTILITE DANS LE MONDE

En 2015, l'infertilité touchait 48.5 millions de couples dans le monde (Agarwal et al., 2015). 50% de ces cas sont dus à un facteur exclusivement féminin. Le facteur masculin seul représente 30% des cas et les 20 % restants sont dus à une combinaison de facteurs masculins et féminins.

La figure I.1 illustre la distribution géographique (en %) de l'infertilité masculine dans le monde. En Algérie, on estime qu'environ 15% des couples en souffrent (Bouzekrini, 2012) dont environ les deux tiers sont d'origine masculine.

I.2.4. TECHNIQUES DE TRAITEMENT DE L'INFERTILITE

Les réponses médicales au problème d'infertilité ont été apportées sous plusieurs formes. Sans être exhaustif, on peut citer :

- Les interventions chirurgicales,
- Les stimulations hormonales,
- L'insémination artificielle avec les spermatozoïdes du conjoint (IAC),
- L'insémination artificielle avec des spermatozoïdes d'un donneur (IAD),
- La fécondation in vitro (FIV),

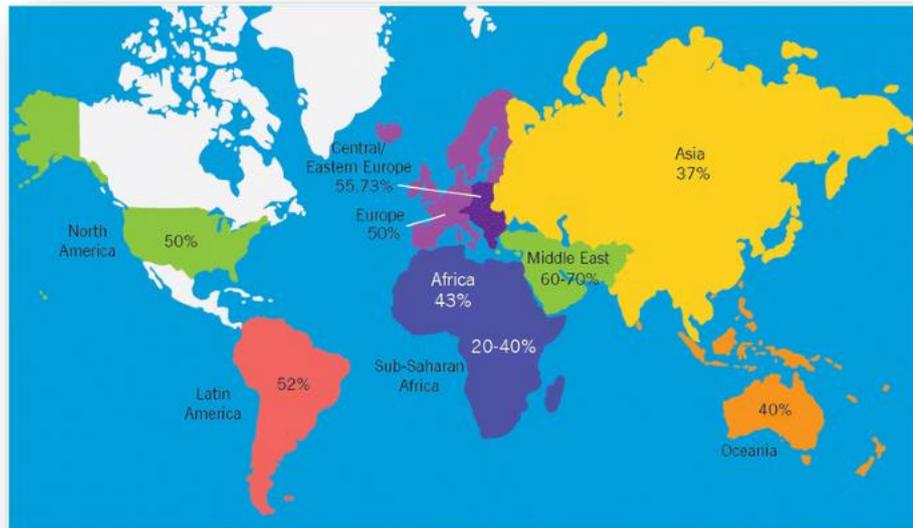


Figure I.1: Pourcentages de cas d'infertilité masculine par région à travers le monde, (Agarwal et al., 2015).

Parmi ces traitements, on distingue les techniques dites d'assistance médicale à la procréation (AMP) (Bréart et al., 1995), définies comme étant l'ensemble des traitements et procédures durant lesquels il y a manipulation de l'ovocyte et du sperme ou des embryons afin de permettre l'amorçage d'une bonne grossesse (Romdhane Samira, 2010).

Dans ce qui suit, nous essayons de donner succinctement le principe des techniques les plus utilisées actuellement :

a) L'insémination artificielle (IA)

Aussi connue sous le nom d'Insémination Intra-Utérine (IIU) : c'est une technique proposée dans de nombreuses situations d'infertilité à trompes normales comme l'infertilité masculine, l'infertilité d'origine cervicale, ou l'infertilité inexplicée (Romdhane Samira, 2010). Elle a pour but de favoriser « *In vivo* » la rencontre des spermatozoïdes les plus féconds sélectionnés au laboratoire, avec 2 ou 3 ovocytes dans l'appareil génital féminin. Cette technique est fréquemment associée à une stimulation de l'ovulation qui a pour objectif une synchronisation précise de l'insémination intra-utérine et de l'ovulation afin d'optimiser les chances de procréation.

b) La Fécondation In Vitro (FIV)

La fécondation in vitro a été proposée comme moyen efficace pour traiter des infertilités résultantes d'une obstruction définitive des trompes de Fallope. Les auteurs dans (Frydman et coll, 1997) découpent schématiquement le processus de FIV en quatre étapes successives :

- i. Stimulation ovarienne: Son objectif est d'obtenir un nombre élevé d'ovocytes, donc d'embryons, et, ainsi augmenter les chances de grossesse par rapport à un cycle spontané. Dans ce processus, il utilise des hormones appelées inducteurs de l'ovulation.
- ii. Recueil des gamètes: La ponction des ovocytes s'effectue généralement sous anesthésie générale légère ou locale de 34 à 36 heures après l'injection des déclencheurs de l'ovulation. Le sperme de bonne qualité est recueilli au laboratoire, le jour de la ponction des follicules, il est ensuite préparé techniquement afin de sélectionner les spermatozoïdes les plus mobiles et ayant la meilleure morphologie.
- iii. La FIV proprement dite : Consiste à la mise en culture des spermatozoïdes sélectionnés avec les ovocytes recueillis, dans des boîtes stériles avec un milieu de culture approprié. La fécondation survient entre 16 et 20 heures après l'insémination, caractérisée par l'apparition de deux pronucléus, masculin et féminin, suivie par la segmentation ou le clivage qui correspond à la division cellulaire de l'ovocyte fécondé (zygote) aboutissant à la formation de l'embryon.
- iv. Le transfert embryonnaire: Les embryons sont cultivés in vitro pendant 48 à 72 heures et transférés par lot de 4 à 8 cellules. Ils sont classés en fonction de leur nombre de cellules, leur régularité et leur fragmentation. Les embryons utilisés en priorité sont ceux chez qui la chronologie de la division cellulaire est respectée, avec des cellules bien régulières et sans fragmentation, car ils donnent les meilleures chances de grossesse. Le transfert consiste à introduire les embryons obtenus à l'intérieur de la cavité utérine en passant à travers le col utérin. Le nombre d'embryon transféré est de l'ordre de 2 à 3 embryons ; un nombre plus important augmente la chance d'obtenir une grossesse mais il augmente le risque de grossesse multiple.

c) *L'injection du spermatozoïde dans le cytoplasme de l'ovocyte (ISCI)* :

Cette technique a été développée en 1992 (Palermo et al., 1992) pour traiter les cas d'infertilité masculine ou d'anomalies du sperme tels que l'azoospermie (absence de spermatozoïdes), l'oligozoospermie (faible concentration de spermatozoïdes), l'asthénozoospermie (faible motilité) ou la tératozoospermie (mauvaise morphologie des spermatozoïdes).

Cette technique est en fait une fécondation in vitro assistée. Elle est proposée en cas d'infertilités masculines sévères portant sur l'un des paramètres du sperme cités ci-dessus ou sur les trois paramètres (oligo-asthénio-tératozoospermie : OAT).

I.3 LE DIAGNOSTIC DE LA FERTILITE MASCULINE

I.3.1 LA SPERMATOGENESE

Les spermatozoïdes sont produits dans les tubules séminifères des testicules mâles adultes dans un processus complexe appelé spermatogénèse qui se déroule sur une période de 60 à 70 jours (Mortimer, 1994). Au cours de la spermatogénèse, une minuscule cellule germinale appelée spermatogonie se divise en plusieurs cellules filles, chacune pouvant devenir un spermatocyte et éventuellement une spermatide. La maturation d'une spermatide dans un spermatozoïde testiculaire reconnaissable se produit au cours du processus de spermiogénèse (étape finale de la spermatogénèse). Le schéma suivant (figure I.2) montre les quatre étapes de cette formation.

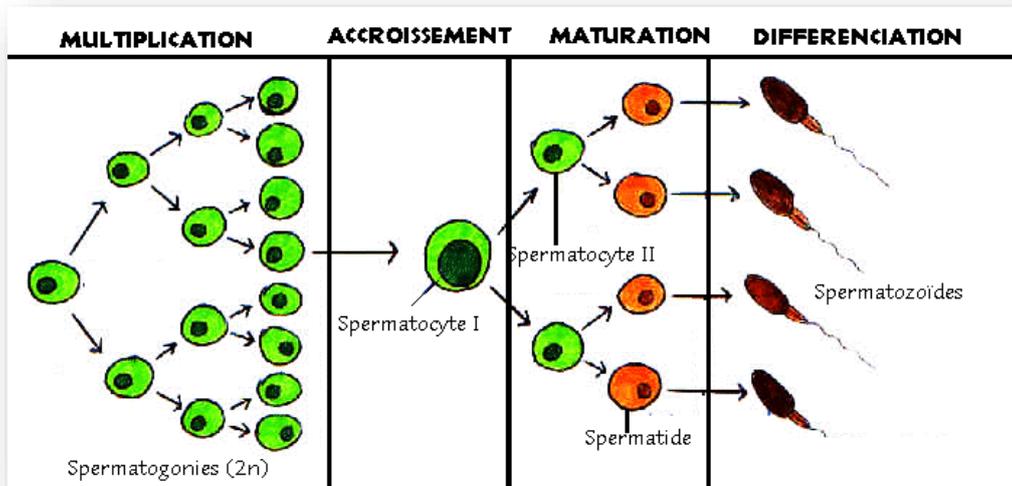


Figure I.2 : Phases du déroulement de la spermatogénèse (Fertilité-info, 2019).

Les spermatozoïdes matures sont ensuite transportés et stockés dans l'épididyme, un tube étroitement enroulé de près de six à sept mètres de long, jusqu'à l'éjaculation (Wikipédia, 2018).

Au cours de la spermatogénèse normale chez un homme adulte en bonne santé, environ 1 200 spermatozoïdes atteignent la maturation à chaque battement de cœur, soit environ 120 millions de spermatozoïdes par jour (The Turek Clinic, 2014). Le nombre et la concentration des spermatozoïdes présentent une large variation intra-individuelle au cours du temps (OMS, 2010).

I.3.2 LE SPERME HUMAIN

Lors de l'éjaculation du sperme, ce dernier résulte du mélange de différentes sécrétions du testicule, du tractus génital et des glandes annexes.

Il comprend :

- Une partie cellulaire : les spermatozoïdes.
- Une partie liquide : le plasma séminal, très hétérogène, contient de nombreux constituants organiques, inorganiques et des multiples enzymes. Ces différents éléments proviennent des sécrétions des cellules glandulaires du tractus génital male.

Le plasma a un rôle de dilution et se comporte comme vecteur des spermatozoïdes et a un effet stimulateur ou activateur de leur mobilité propre. Il a aussi un important rôle nutritif. En absence d'oxygène, les spermatozoïdes utilisent le métabolisme glucidique comme principale source d'énergie, c'est là qu'intervient surtout le fructose qui reflète l'activité des vésicules séminales (Lornage, 2004).

Lors de l'éjaculat, le sperme est projeté par saccades et il a été démontré qu'il existe un fractionnement qui comprendrait :

- Une fraction pré-spermatique (5 à 20 % du volume total) ; le liquide est très fluide et comprend les sécrétions mélangées des glandes de Cowper et des glandes urétrales. Elle peut contenir jusqu'à 5 % des spermatozoïdes.
- Une fraction spermatique (30 à 50 % du volume total) ; c'est la fraction principale de l'éjaculat contenant la grande majorité des spermatozoïdes (46 à 80 %). Les sécrétions proviennent de l'ampoule du canal déférent, de la prostate, des testicules et en partie des vésicules séminales.
- Une fraction post-spermatique (13 à 32 % du volume total) ; elle renfermerait les sécrétions des vésicules séminales. Elle peut aussi contenir les spermatozoïdes dont un fort pourcentage serait mort ou altéré. Toutefois, il est nécessaire de recueillir l'éjaculat total pour un bon examen du sperme (Mbacker, 1984).

I.3.3 PHYSIOLOGIE DES SPERMATOZOÏDES HUMAIN

Comme illustré par la figure I.3, le spermatozoïde humain typique a trois parties principales et clairement discernables : une tête, une pièce intermédiaire et une queue aussi appelée flagelle.

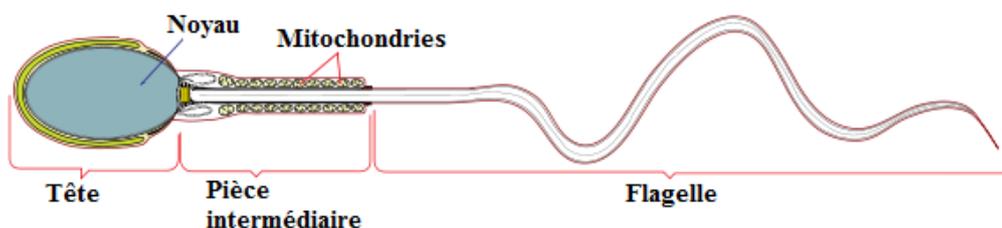


Figure I.3 : Anatomie du spermatozoïde humain (Wikipedia, 2019)

- La tête a une longueur d'environ 3 à 5 μm et une largeur de 2 à 3 μm et comprend un noyau qui contient du matériel génétique et un acrosome ressemblant à un capuchon qui contient des enzymes digestives nécessaires à la pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte femelle.
- La partie intermédiaire épaissie entre la tête et la queue. Elle mesure environ 7 à 8 μm de long et 1 μm de large, il est constitué de mitochondries en spirale.
- La queue ressemblant à un fouet mesure environ 50 μm (OMS, 2010 ; Mortimer, 1994).

Il est intéressant de noter que, contrairement à la croyance populaire, presque tous les spermatozoïdes testiculaires sont immobiles et n'acquièrent de motilité qu'après éjaculation lorsqu'ils sont mélangés aux sécrétions des glandes accessoires du canal déférent, des vésicules séminales et de la prostate (Mortimer, 1994). Immédiatement après l'éjaculation, le sperme est une masse coagulée épaisse composée des spermatozoïdes et des corps gélatineux. Les spermatozoïdes eux-mêmes ne représentent que 1 à 5% du volume total de l'éjaculat. Sur une période de 15 à 30 minutes, à température ambiante, le sperme atteint une consistance aqueuse grâce à un processus connu sous le nom de liquéfaction après quoi la motilité des spermatozoïdes est nettement augmentée.

I.3.4 PATHOPHYSIOLOGIE DU SPERME HUMAIN

La complexité de la structure et de la fonction du sperme rend difficile la compréhension des raisons physiopathologiques de l'infertilité d'un homme. Si les processus de développement ou de maturation sont perturbés, cela pourrait entraîner des problèmes, tels que :

- Une faible concentration des spermatozoïdes (due à une spermatogenèse inefficace).
- Une mauvaise mobilité des spermatozoïdes (causée par des anomalies du milieu de la pièce ou des anomalies axonémales).
- Une morphologie anormale des spermatozoïdes (due à des erreurs de spermiogénèse).

Cette liste n'est donnée qu'à titre d'exemple, elle pourrait être étendue à toutes les étapes de chaque processus, allant de l'activation du spermatogonium à la fécondation, et même plus loin, parce que l'embryon est affecté par la qualité de l'ADN du spermatozoïde fécondant (Patton et Battaglia, 2007).

I.3.5 MOYEN D'EXPLORATION DE L'INFERTILITE MASCULINE

Comme dans toute autre pathologie, le diagnostic de l'infertilité masculine va être évoqué, suspecté, exploré pour finalement être posé et confirmé. Cette démarche se compose de plusieurs étapes comportant tout d'abord un interrogatoire complet qui doit être le plus exhaustif possible ; un examen clinique minutieux ; des examens du sperme qui constitue l'étude cytologique et bactériologique des spermatozoïdes ; un test de HUHNER et une biopsie testiculaire (Fizazi Anissa, 2016).

Dans ce qui suit, nous présentons la description ainsi que l'interprétation de chacun des 3 examens exploratoires les plus demandés qui sont : l'examen de sperme, le spermogramme et le spermocytogramme.

a) Examen de sperme

L'examen du sperme est la pierre angulaire de l'évaluation de l'infertilité du partenaire masculin, il évalue non seulement les spermatozoïdes, mais aussi le plasma séminal et les cellules non spermatiques.

- Les spermatozoïdes humains présentent une hétérogénéité marquée et deux échantillons de sperme doivent être évalués, prélevés au moins 7 jours entre les prélèvements, et 3 mois après toute maladie fébrile.
- Les échantillons sont prélevés après une période d'abstinence supérieure à 48 h, mais inférieure à 7 jours.
- Les échantillons doivent être analysés dans l'heure qui suit le prélèvement, car le sperme se liquéfie à température ambiante dans les 60 minutes (Samplaski et al., 2010).
- La température agit sur la mobilité et le pouvoir fécondant du sperme. A 37°C, les spermatozoïdes ont une bonne mobilité. A plus de 41°C, ils meurent (Auger et al., 2000).

Au laboratoire, le sperme est recueilli dans des tubes stériles maintenus à l'étuve à 37°C jusqu'à la liquéfaction du liquide séminal (entre 10 à 20 mn) ensuite un échantillon de 10 à 20 microlitres est étalé entre lame et lamelle pour observation.

L'analyse des caractéristiques du sperme est évaluée à l'aide de plages de référence normalisées par l'organisation mondiale de la santé (voir tableau I.1) (Cooper et al., 2010). Ces valeurs ont été publiées sous forme des manuels en 1980, 1987, 1992, 1999, 2009 et 2010.

Tableau I.1: Valeurs de référence standards pour le sperme humain fournis par l'OMS en 2010 (Cooper et al., 2010)

| Paramètre | Limite de référence inférieure |
|---|--------------------------------|
| Volume (ml) | 1.5 (1.4 – 1.7) |
| Ph | ≥ 7,2 |
| Concentration de spermatozoïdes (millions de spermatozoïdes / ml) | 15 (12 - 16) |
| Nombre total de spermatozoïdes (millions de spermatozoïdes / éjaculation) | 39 (33 - 46) |
| Motilité progressive (%) | 32 (31 - 34) |
| Motilité totale (progressive + non progressive) (%) | 40 (38 - 42) |
| Morphologie (formes normales, %) | 4.0 (3.0 – 4.0) |
| Vitalité (spermatozoïde vivant, %) | 58 (55 - 63) |

Il faut souligner que les données portant sur le sperme et provenant de laboratoires différents ne peuvent être considérées ni comme des données exactes ni comme des données strictement comparables. En effet, l'analyse du sperme correspond à un ensemble de procédures de laboratoire complexes, se basant sur une évaluation microscopique effectuée par un opérateur humain, et demeurent donc subjectives.

Les conclusions d'une analyse doivent tenir compte de l'erreur de mesure. En effet, les valeurs produites de concentration (million/ml), de la motilité ou de la morphologie typique se fondent sur une évaluation d'un nombre limité des spermatozoïdes (de l'ordre d'une ou de plusieurs centaines quand cela est possible). À cause de ce petit nombre, mais aussi à cause de l'hétérogénéité du sperme, le postulat que le petit échantillon de spermatozoïdes à partir desquels ces caractéristiques ont été évaluées est représentatif de l'ensemble de l'échantillon ne peut s'appliquer : en fonction du nombre de spermatozoïdes évalués, il y a une erreur de comptage plus ou moins importante et un intervalle de confiance plus ou moins large autour de la valeur fournie.

b) Le spermogramme et son interprétation

L'identification des causes de l'infertilité masculine chez un patient rencontrant des difficultés à procréer commence par un spermogramme : c'est un élément incontournable de l'évaluation de l'infertilité masculine. Cet examen médical permet l'étude de la fraction liquidienne du sperme (Virginie Pierre, 2013). Le spermogramme doit être réalisé dans un laboratoire spécialisé et par un biologiste andrologue expérimenté. Il doit être interprété en tenant compte des données cliniques du patient. Il a pour but d'évaluer l'activité sécrétoire de l'éjaculat : le volume, la viscosité et le pH ainsi que la concentration (ou densité), la motilité, la vitalité et la morphologie des spermatozoïdes.

L'appréciation des caractères morphologiques des spermatozoïdes est complexe du fait de la grande variabilité de la morphologie des spermatozoïdes humains, ce qui nécessite la pratique d'un autre test qui est spécialisé uniquement à la classification de la morphologie de spermatozoïdes humains (Benkhelifa Mariem, 2013).

Immédiatement après l'éjaculation, le sperme est déposé dans une étuve à 37°C puis on doit le laisser se liquéfier pendant environ 30 minutes (OMS, 2010). A terme, l'examen proprement dit est déclenché : il consiste à analyser le sperme en mesurant les caractéristiques telles que : le pH, le volume, la concentration, la motilité, ainsi que d'autres indices.

• **Le pH:** Il est normalement compris entre 7.4 et 8.0. Des valeurs trop faibles peuvent être le reflet d'un défaut de sécrétion des vésicules séminales (normalement alcalines) alors qu'un pH nettement alcalin peut révéler une insuffisance des sécrétions prostatiques (normalement légèrement acides).

• **Le volume** : Il traduit essentiellement les capacités sécrétoires des glandes annexes.

- Une hyperspermie (volume > 6ml) est généralement le témoin d'une hypersécrétion des vésicules séminales qui normalement forment l'essentiel du volume de l'éjaculat et ne doit pas être considérée comme pathologique.
- Par contre, lorsqu'il n'existe pas de problème lié au recueil (perte d'une fraction de l'éjaculat), l'hypospermie (volume < 2 ml) peut s'expliquer soit par un trouble de l'éjaculation, soit par une insuffisance sécrétoire de l'une des glandes annexes pouvant être liée à une infection (prostatite, vésiculite) ou à l'absence même de vésicules séminales.

• **La concentration** : Aussi appelée densité, il représente le paramètre le plus ancien que l'on étudie lors d'une analyse de sperme. La concentration est mesurée en millions/ml. Le seuil de 20 millions --concentration de spermatozoïdes dans un éjaculat (Lieberman, 1993). L'observation d'une faible concentration, appelée oligozoospermie, est indiquée lorsque la concentration des spermatozoïdes tombe en dessous de 5×10^6 /ml à 10×10^6 /ml en fonction du seuil utilisé. Cela peut être dû à la perte d'une partie de l'actif de l'éjaculat, obstruction partielle du tractus génital, médicaments ou anomalies génétiques, d'autres facteurs comprennent les médicaments comme la nitrofurantoïne et l'exposition excessive à la chaleur.

D'autre part, l'azoospermie ou absence totale de spermatozoïdes peut être le résultat de l'obstruction du transport du sperme (hypogonadisme) et peut aussi être à cause d'iatriques due à la chimiothérapie ou des facteurs idiopathiques, qui sont très probablement d'origine génétique (Jarow et al., 1989).

• **La motilité**: Elle est appréciée au microscope optique et elle est exprimée en pourcentage de spermatozoïdes mobiles. Une évaluation qualitative est réalisée de façon subjective en différenciant les spermatozoïdes qui se déplacent suivant une trajectoire sensiblement linéaire de ceux mobiles sur place ou ne progressant que très faiblement. L'étendue de la motilité progressive des spermatozoïdes est liée aux taux de grossesse.

La motilité est en fait déterminée des deux manières différentes :

- La première, par observation manuelle de l'échantillon à l'aide d'un microscope à contraste de phase avec un zoom de $\times 200$ ou $\times 400$.
- Plus récemment, des techniques d'analyse automatisée du sperme assistée par ordinateur (CASA) ont été introduites avec plus ou moins de succès (Oehninger et Kruger, 2007).

La motilité des spermatozoïdes doit être évaluée dès que possible après la liquéfaction de l'échantillon, de préférence au bout de 30 minutes. Néanmoins, dans tous les cas, dans l'heure qui

suit l'éjaculation, pour limiter les effets délétères de la déshydratation, du changement de pH, ou des changements de température affectant la mobilité (Cardona, 2010).

Un système simple de classement de la motilité est recommandé pour distinguer les spermatozoïdes à motilité progressive ou non progressive de ceux qui sont immobiles. La motilité de chaque spermatozoïde est classée comme suit :

- 1) Motilité progressive (PR) : Spermatozoïdes se déplaçant activement, soit linéairement, soit dans une zone grand cercle, quelle que soit la vitesse.
- 2) Motilité non progressive (NP) : Spermatozoïdes ayant les autres schémas de motilité avec absence de progression. Par exemple : nageant dans des petits cercles, ou bien la force flagellaire se déplace à peine. ou lorsque seul un battement flagellaire est observé.
- 3) Immotilité (IM) : Spermatozoïdes n'ayant aucun mouvement (immobile).

L'analyse de la motilité nécessite qu'au moins 200 spermatozoïdes soient comptés dans cinq champs de grossissement distincts à haute puissance en utilisant la microscopie à contraste de phase. Le pourcentage des différentes catégories doit totaliser 100%. Le comptage doit être répété sur une préparation humide séparée. Les résultats des deux dénombrements sont ensuite moyennés (Kvist et Björndahl, 2002). Le comptage doit se baser uniquement sur les spermatozoïdes intacts (ayant une tête et une queue).

• **La vitalité** : Les spermatozoïdes non mobiles peuvent être morts (nécrospermie) ou immobiles à la suite d'un défaut ultra-structurel. L'analyse de la vitalité est indiquée lorsque les spermatozoïdes mobiles sont inférieurs à 5-10 %. Une vitalité élevée avec une faible motilité est indicative d'une anomalie structurelle, telle que la dyskinésie ciliaire primaire, qui peut faire l'objet d'une évaluation plus poussée avec microscopie électronique. Les essais de vitalité peuvent être réalisés pour déterminer quels spermatozoïdes sont vivants et adaptés à l'injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes ICSI (Wilcox et al., 1995).

L'atteinte du profil spermatique peut être secondaire à l'altération d'un seul ou de plusieurs paramètres du spermogramme. Pour chaque paramètre, on définit une ou plusieurs anomalies. (Tableau I.2) A l'exception des situations d'azoospermie et d'oligospermie sévère confirmées, les données du spermogramme ne permettent pas de conclure si le patient est fertile ou infertile. Chez les hommes azoospermiques et oligospermiques, d'autres explorations sont nécessaires pour déterminer l'origine sécrétoire ou excrétoire de cette anomalie de la numération.

Tableau I.2: Anomalies du spermogramme fournis par l'OMS (Cooper et al., 2010)

| Nom d'anomalie | Définition |
|--|---|
| Hypospermie | Volume éjaculatoire complet inférieur à 2 mL |
| Aspermie | Volume éjaculatoire nul |
| Hyperspermie | Volume éjaculatoire supérieur à 6 mL |
| Oligozoospermie <ul style="list-style-type: none"> • Modérée • Sévère • Extrême | Concentration en spermatozoïdes < 20 millions /ml de 5 à 20 millions /mL de 2 à 5 millions /mL inférieur à 2 millions / mL |
| Polyzoospermie | Concentration de spermatozoïdes supérieure à 250 millions /mL |
| Azoospermie | Absence de spermatozoïdes sur l'éjaculat frais centrifugé à 300 g pendant 15 mn, examiné a fort grossissement (x 400). |
| Cryptozoospermie | Quelques spermatozoïdes sur le culot de centrifugation examiné à fort grossissement(x 400), mais pas sur l'examen de l'éjaculat –frais– |
| Asthénozoospermie | Diminution de mobilité des spermatozoïdes |
| Akinétospermie | Mobilité nulle de tous les spermatozoïdes du recueil |
| Tératozoospermie | Nombre de spermatozoïdes anormaux |
| Nécrozoospermie | Baisse de vitalité des spermatozoïdes |

c) Le Spermocytogramme

Le spermocytogramme est un examen visant à analyser la morphologie des spermatozoïdes, l'un des paramètres spermatiques étudiés dans le cadre d'un bilan de fertilité. Cet examen est réalisé environ 30 minutes après l'éjaculation et liquéfaction du liquide séminal. Pour obtenir une interprétation fiable, il faut réaliser l'examen au moins deux fois à 3 mois d'intervalle minimum (Hansen et al., 1991).

I.3.6 LA MORPHOLOGIE DU SPERME

La morphologie du sperme est une autre mesure de la qualité du sperme. Par l'évaluation des dimensions et des caractéristiques de forme de la tête du spermatozoïde, de la pièce intermédiaire, et la queue, les spermatozoïdes peuvent être classés comme "normaux" ou « anormaux ».

Dans le système de classification le plus strict défini par Kruger (Acosta et Kruger, 1996), seulement 14 % des spermatozoïdes sont considéré comme normaux. En fait, ce nombre est en corrélation avec le succès de la fécondation des ovules in vitro (FIV) et on lui attribue donc une signification clinique. En outre, la morphologie des spermatozoïdes est un indicateur de la santé testiculaire, car les caractéristiques de forme sont déterminées pendant la spermatogenèse.

La morphologie du sperme complète d'autres informations pour estimer les chances de fécondité. Un spermatozoïde normal est défini comme un spermatozoïde dont la tête est de forme ovale avec un contour lisse et un acrosome clairement visible et bien défini, avec une coloration bleu clair homogène. La queue doit être attachée sans aucune anomalie au cou, il ne devrait pas y avoir d'anomalies de la queue et il ne devrait pas y avoir de résidus cytoplasmiques dans la région du cou ou sur la queue (Acosta et Kruger, 1996) (voir figure I.4).

Les derniers manuels de l'OMS recommandent que les spermatozoïdes ne soient classés que selon deux catégories : normaux ou anormaux. Il convient de noter si une anomalie spécifique se produit à une fréquence supérieure à 20 %. Cependant, une anomalie du spermatozoïde ne peut présenter qu'une seule anomalie spécifique ou une combinaison de deux à quatre anomalies. Pour refléter cela, l'indice de tératozoospermie (TZI) a été introduit comme une indication du nombre moyen d'anomalies par anormalité des spermatozoïdes (Lieberman, 1993).

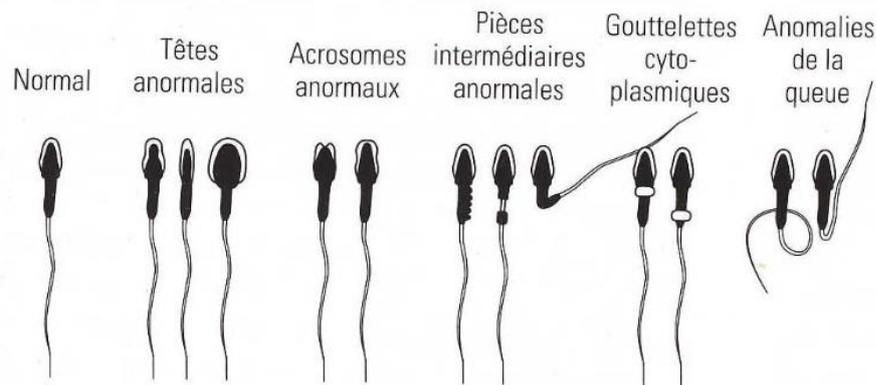


Figure I.4 : Représentation schématique des anomalies chromosomiques possibles (Blanchard et al., 2011)

I.4 OUTILS D'ANALYSE DU SPERMOGRAMME

I.4.1 ANALYSE MANUELLE DU SPERME

Aujourd'hui, dans la grande majorité des laboratoires d'analyses, les données portant sur le sperme ne peuvent être considérées comme exactes ni comparables. En effet, l'analyse du sperme correspond à un ensemble des procédures complexes de laboratoire dont la plupart sont réalisées manuellement par des techniciens biologistes qui évaluent visuellement la qualité du sperme en utilisant un microscope. Les conclusions d'une analyse doivent tenir compte de l'erreur de mesure. En effet, les valeurs estimées de la concentration (en $10^6/\text{ml}$), de la motilité ou de la morphologie typiques se font sur une évaluation basée sur un nombre limité des spermatozoïdes (de l'ordre d'une ou de plusieurs centaines, quand cela est possible). La concentration des spermatozoïdes est généralement mesurée en identifiant et en comptant manuellement les spermatozoïdes à l'aide d'une

lentille oculaire du microscope incorporant une grille de comptage à 10×10 fenêtrés, appelée chambre de comptage (voir figure I.5).

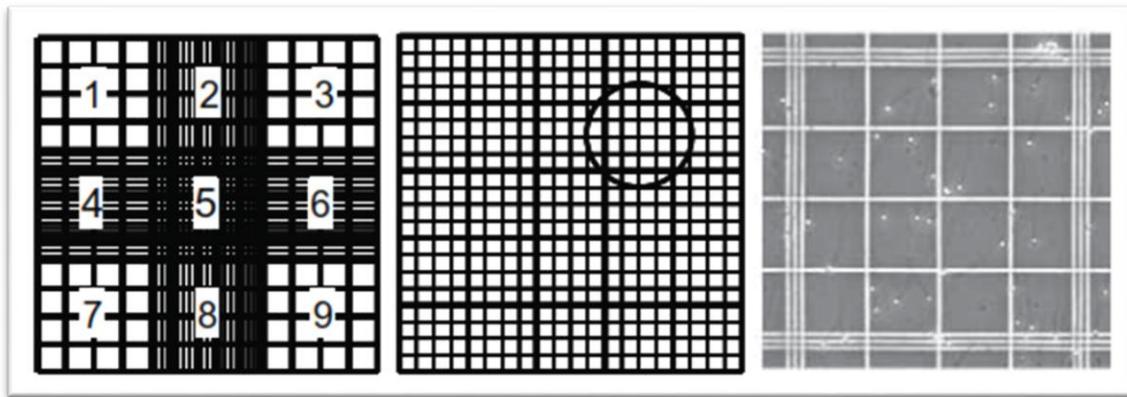


Figure I.5 : Chambre de comptage nommée « The Improved Neubauer Haemocytometer » (OMS, 2010)

Le nombre des spermatozoïdes comptés dans la grille est ensuite multiplié par un facteur d'échelle (différent pour chaque microscope et obtenu par étalonnage) qui relie la zone de la grille à un volume fractionné et finalement à une concentration exprimée en millions de spermatozoïdes par ml (OMS, 2010; Vitrolife, 2012). Le pourcentage des spermatozoïdes mobiles est généralement mesuré visuellement comme étant le nombre des spermatozoïdes faisant un mouvement quelconque (progressif ou non). Ceci est jugé subjectivement par le technicien biologiste (OMS, 2010). Il subsiste une erreur d'estimation de ce paramètre plus ou moins importante, donc un intervalle de confiance plus ou moins large autour de la valeur fournie (par exemple, l'erreur de comptage est de l'ordre de 25 % pour 50 spermatozoïdes comptés et de 10 % pour 400 spermatozoïdes comptés).

➤ Limitations et défis de l'analyse manuelle du sperme

L'analyse manuelle du sperme est pénible et subjective (Chong et al., 1983 ; Yeung et al., 1997) et demeure l'un des derniers tests de laboratoire clinique reposant sur l'analyse microscopique manuelle (Rothmann et al., 2007). Les différences dans la formation des techniciens biologistes, le non-respect de la normalisation des protocoles émis par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), l'absence ou le faible contrôle de la qualité par les organismes de santé, et la fatigue visuelle inéluctable des techniciens continuent de contribuer aux incohérences inter et intra-laboratoires dans les résultats des analyses de sperme. Ces incohérences influencent la capacité des médecins (et des patients) pour interpréter les données d'analyse de sperme (Brooks et al., 2004) et par conséquent pour fournir un bon diagnostic et un traitement convenable. Bien que le comptage et la mesure de la concentration totale des spermatozoïdes puissent être raisonnablement estimés avec une certaine précision à l'aide des méthodes manuelles, aucune des deux valeurs ne pouvaient établir une corrélation entre celles-ci et la cause de l'infertilité (Gaffney et al., 2011). Par contre, les propriétés cinématiques des spermatozoïdes ont une plus grande signification clinique dans la prédiction de

l'infertilité (Mortimer, 1994). Ces paramètres dynamiques de mouvement du sperme sont impossibles à discerner visuellement pour un observateur humain.

I.4.2 ANALYSE AUTOMATIQUE DU SPERME : LE SYSTEME 'CASA'

Le premier système d'analyse du sperme assistée par ordinateur (CASA – Computer Assisted Semen Analysis) a vu le jour en 1985 (Lu et al, 2014). Ces systèmes utilisent des ordinateurs pour capturer numériquement une séquence d'images vidéo à partir d'un microscope et appliquent des algorithmes de traitement d'images numériques pour détecter et compter automatiquement les spermatozoïdes. En outre, les systèmes CASA peuvent reconstruire les trajectoires de nage des spermatozoïdes sur plusieurs images de vidéo et permettent ainsi de mesurer ces paramètres qui sont impossibles pour un observateur humain de les discerner visuellement.

Malheureusement, les systèmes CASA actuels restent d'un coût prohibitif et nécessitent une intervention importante de l'utilisateur pour fonctionner (Rothmann et al., 2007). Actuellement, on estime leur taux d'utilisation à moins de 2 % des laboratoires traitant le sperme humain, et moins de 20 % des principaux laboratoires d'andrologie aux États-Unis (Amann et al., 2004).

I.5 CONCLUSION

Nous avons présenté dans ce premier chapitre le contexte médical de notre thèse. Dans sa première partie, nous avons abordé des généralités sur l'infertilité masculine et les différentes techniques de son traitement. Dans sa deuxième partie, nous avons décrit la physiologie du sperme et les examens permettant le diagnostic de ses différentes pathologies. La dernière partie de ce chapitre a été dédiée à la description de la procédure d'analyse manuelle de sperme humain, appelée spermogramme, puis nous avons introduit la technique d'automatisation de cette procédure à l'aide des systèmes (CASA) qui sera étudié en détail dans le prochain chapitre.

Chapitre II :

ETAT DE L'ART DES
TECHNIQUES D'AUTOMATISATION
DE LA PROCEDURE D'ANALYSE DU SPERME

II.1 INTRODUCTION

Les caractéristiques des spermatozoïdes tels que la concentration, la morphologie, la motilité ainsi que la trajectoire ont un grand intérêt pour les biologistes et les médecins qui évaluent et traitent les pathologies de la reproduction masculine (OMS, 2010 ; Mortimer, 1994). Les spermatozoïdes humains sont régulièrement examinés dans les cliniques de fertilité à travers le monde comme première étape pour l'identification des causes de l'infertilité présumée d'un couple (Opinion, 2012). Aujourd'hui, la méthode dominante d'analyse du sperme humain dans les cliniques de fertilité est la méthode manuelle. Elle se base sur une évaluation visuelle des paramètres du sperme par les techniciens andrologues. Cette méthode est très laborieuse et subjective (Yueng et al., 1997 ; Chong et al., 1983). Les tentatives pour rendre cette analyse plus objective ont commencé au milieu des années 80 avec l'introduction des systèmes d'analyse du sperme assistée par ordinateur (CASA) (Mortimer, 2000 ; Amann et al., 2004).

Dans ce chapitre, nous allons définir le concept d'analyse du sperme assisté par ordinateur puis nous présenterons un état de l'art sur l'évolution des techniques d'automatisation de l'analyse du sperme humain ou animal tant pour l'étape de segmentation que de l'étape de détection du mouvement. Nous y présenterons l'architecture générique fonctionnelle d'un système CASA puis nous décrirons quelques CASA commercialisés.

II.2 LE CONCEPT D'ANALYSE DU SPERME ASSISTE PAR ORDINATEUR

D'un point de vue matériel, un CASA est un système automatisé composé de :

- Un microscope à fort grossissement (zoom) équipé d'une caméra permettant la capture et la numérisation des images et de séquences vidéo ;
- Un système informatique munis des programmes (ou logiciels) permettant le traitement des images et séquences vidéo dans le but de fournir des évaluations et des estimations précises sur des caractéristiques du sperme telles que la concentration, la motilité, la vitalité, la morphologie et les paramètres cinétiques (Lu et al., 2014 ; Talarczyk-Desole et al., 2017).

La plupart des systèmes CASA fonctionnent en deux étapes de base :

- Une étape pour l'identification des spermatozoïdes dans les vidéos enregistrées : les différentes vidéos de sperme provenant du champ microscopique sont capturées par une caméra puis converties en images numériques. La capture de ces images est faite dans un champ sombre à contraste de phase élevé négatif afin d'obtenir des têtes des spermatozoïdes sous forme d'objets blanc clair sur un fond noir. Ce mode de capture permet de garder une luminosité constante même lors du déplacement des spermatozoïdes.

- Une étape d'estimation des caractéristiques du sperme à partir des images: la concentration, la motilité, la morphologie et les paramètres cinétiques sont estimés à l'aide d'outils et algorithmes de traitement d'images. La trajectoire de chaque spermatozoïde est analysée par ordinateur en fonction de la fréquence de capture vidéo prédéfinie (frames/secondes) et de la marge de valeurs des niveaux de gris (intervalle) des pixels de la tête du spermatozoïde (Holt et al., 2007 ; Mortimer, 2000).

II.2.1 PROCEDURE D'ENREGISTREMENT DES SEQUENCES VIDEO MICROSCOPIQUES

Les systèmes CASA estiment les paramètres du sperme humain à partir d'un enregistrement vidéo sous un protocole défini par l'OMS. Ce protocole commence par une étape de dilution du sperme dans le but de l'évaluation de la concentration et/ou de la morphologie ; Il peut aussi comporter une étape de lavage lorsque le nombre de débris dans le sperme (particules indésirables) est important dans l'échantillon qui peut interférer avec le comptage des spermatozoïdes.

A l'issue cette première phase, on passe aux étapes suivantes :

a) La préparation des échantillons de sperme avant l'enregistrement :

- Les enregistrements doivent être effectués à une température ambiante (~ 37°C).
- La préparation des enregistrements doit assurer la présence de 400 spermatozoïdes dans un seul champ enregistré à partir de plusieurs échantillons de sperme différents. En cas de faible concentration, plus de 10 champs peuvent être enregistré pour donner le nombre adéquat : cet enregistrement prendra plusieurs minutes.
- La concentration de sperme ne doit pas dépasser 50×10^6 par ml ; les échantillons plus concentrés doivent être dilués dans plasma séminal homologue.
- L'enregistrement vidéo peut être effectué à l'aide d'une chambre de comptage fixe de 20µm de profondeur (utilisation de 7µl de sperme) ou avec l'utilisation d'une lame avec couvre objet de 20mm×20mm (utilisation de 10µl de sperme).
- Un réglage du grossissement (magnitude) est demandé pour chaque paramètre évalué : pour la motilité et la concentration, le grossissement nécessaire est de '×200' ou bien '×400' et pour la morphologie, on adopte le grossissement '×1000'. Les figures II.1, II.2 et II.3 montrent des images de sperme à différentes magnitudes.

b) Le processus d'enregistrement des vidéos

- Les enregistrements doivent être préparés dans une ou plusieurs sessions selon la qualité d'échantillons de sperme disponible.
- Chaque champ doit avoir un code unique sur l'enregistrement vidéo.
- Avant de commencer l'enregistrement, une image de codage sera enregistrée pour vérifier la calibration du système pendant 10 secondes avec la vérification des bords (moins de 5 mm).
- L'enregistrement de champ durera 15 secondes chacun avec insertion de blanc, pendant 3 secondes, signifiant la fin de l'enregistrement du champ ou la fin de la vidéo.

- Ce processus est répété jusqu'à ce que le nombre souhaité d'échantillons ait été enregistré sur la vidéo.

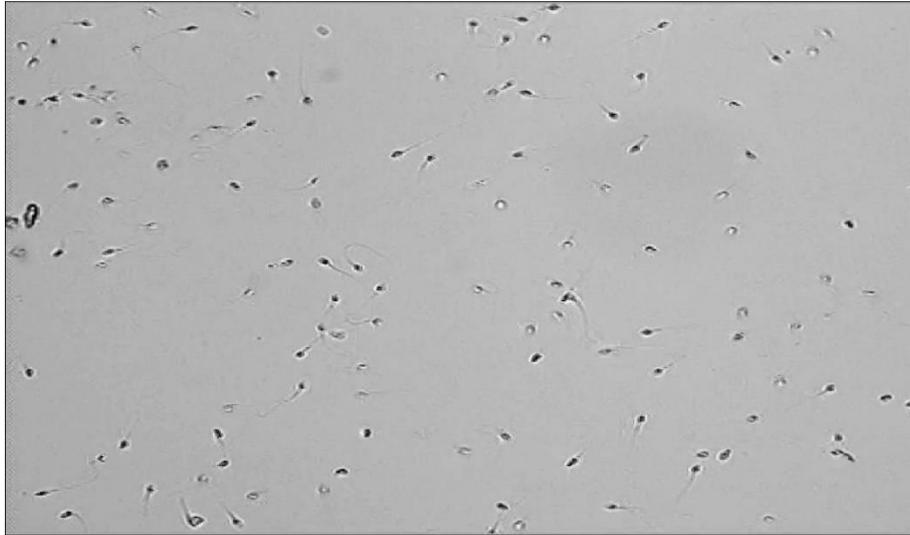


Figure II.1 : Sperme lavé avec un agrandissement de $\times 200$

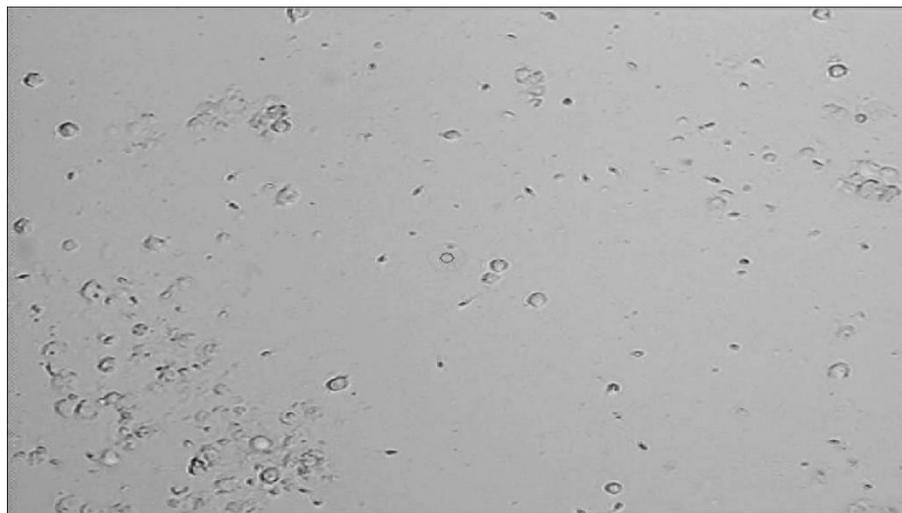


Figure II.2: Sperme non lavé avec un agrandissement de $\times 200$

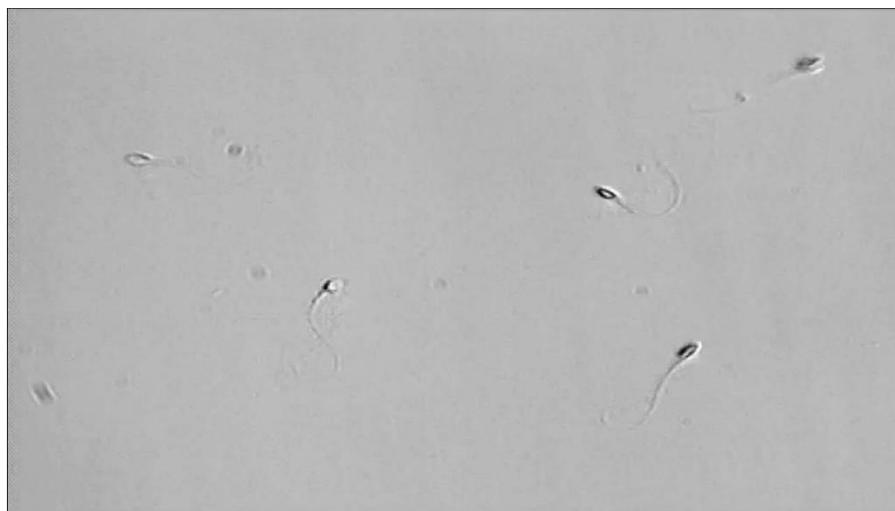
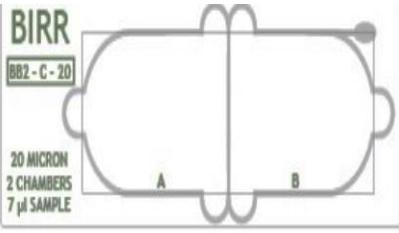
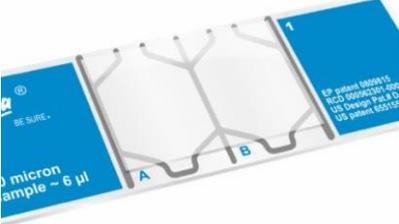


Figure II.3 : Sperme avec un agrandissement de $\times 400$

II.2.2 DESCRIPTION DE LA CHAMBRE DE COMPTAGE

L'OMS recommande l'utilisation de chambre de comptage de 20 µm de profondeur permettant d'obtenir des résultats fiables. La profondeur de la chambre doit être suffisante pour ne pas contraindre le mouvement des spermatozoïdes et à la fois permettre un focus adéquat grâce à la formation d'une monocouche des cellules (ESHRE, 1998). En effet, cette profondeur de chambre de 20 µm est un bon compromis permettant la préservation des mouvements d'hyperactivation (LeLannou et al., 1992). Plusieurs chambres de comptage sont commercialisées. Le tableau II.1 présente quelques-unes d'elles.

Tableau II.1. Exemple de chambres de comptage.

| Lame de comptage | Caractéristiques | |
|---------------------------------------|--|--|
| <p>BIRR (Lucie, 2019)</p> | <p>Lame avec marquage CE composées de 2 chambres d'une profondeur de 20 µm et d'une capacité de 7 µL chacune.</p> |  |
| <p>Leja (Bailey, 2007)</p> | <p>Lame avec marquage CE composées de 2 chambres d'une profondeur de 20 µm et d'une capacité de 6 µL chacune.</p> |  |
| <p>MALASSEZ (Araoudiou, 2018)</p> | <p>Lame de marquage CE composée de 2 chambres d'une profondeur de 20 µm et d'une capacité de 7 µL chacune. Elle contient deux lamelles optiquement planes (22 × 22 mm). Elle est composée de 100 unités rectangulaires, le volume de chacune est 0.01µl.</p> |  |
| <p>Makler (Albert, 2005).</p> | <p>Cette chambre est composée de deux parties :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. La partie inférieure comprend une base de métal et deux anses. Au centre de la base, il s'agit d'un disque plat composé de verre optique plat sur lequel l'échantillon est placé. 2. La partie supérieure est un couvercle en verre entouré d'un anneau de métal. Au centre de sa surface inférieure, il existe une grille d'1 mm², subdivisé en 100 carrés, chacun de 0.1 x 0.1 mm |  |

II.3 TRAVAUX SUR L'ANALYSE DU SPERME DANS LA LITTERATURE

En ayant comme objectif l'amélioration et l'automatisation de l'analyse du sperme, les publications scientifiques dans ce domaine, ces trois dernières décennies, ont connu une augmentation substantielle (voir figure II.4). L'application des CASA dans la recherche, la forte demande des analyses automatiques par les techniciens andrologues et l'intérêt croissant des fabricants de systèmes CASA ont encouragé son incorporation dans la pratique clinique de routine. Bien que le manuel révisé de l'OMS (OMS, 2010) recommande l'introduction des systèmes CASA comme moyen sélectif d'analyse des échantillons de sperme (Lu et al., 2010), ils demeurent néanmoins sous-utilisés du fait de leurs coûts exorbitants.

La réduction du prix d'un système CASA, l'amélioration de sa précision, la réduction du temps de traitement et la simplification d'utilisation sont des défis à relever par la communauté scientifique afin de rendre ces systèmes plus conviés, ce qui justifie le projet investi durant notre doctorat.

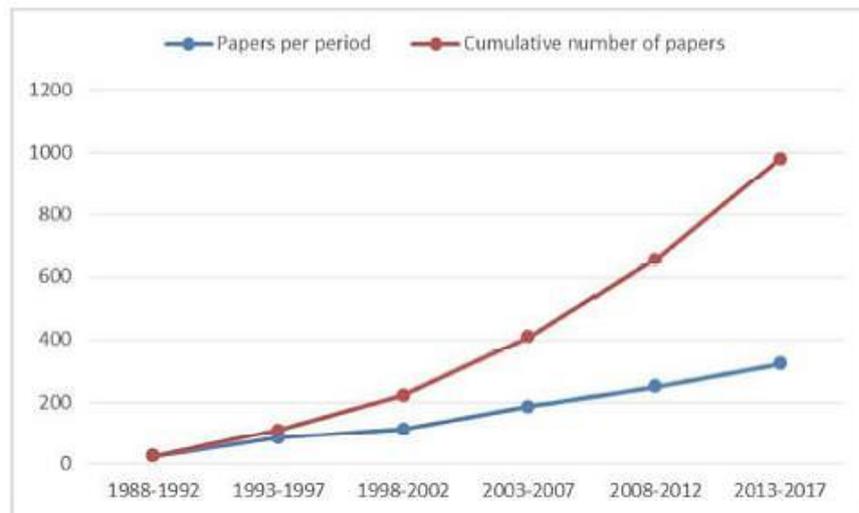


Figure II.4 : Augmentation des publications liées à le CASA pour chaque période de cinq ans entre 1988 et 2017. Adapté de (Van der Horst, et al., 2017).

II.3.1 SYNTHÈSE DES TRAVAUX ANTERIEURS

L'automatisation de la procédure d'analyse du sperme commence par la capture de séquences vidéo microscopiques mettant en scène une chambre de comptage contenant un échantillon de spermatozoïdes. Pour l'étude de la morphologie, les images microscopiques sont de type mono-objet, c'est-à-dire comprenant un seul spermatozoïde, elle consiste à étudier la forme de chaque partie de celui-ci. Alors que pour l'étude de la motilité, le suivie et la concentration, les images sont de type multi-objets (OMS, 2010).

Les séquences vidéo brutes capturées mettent en scène les objets d'intérêt, qui sont les spermatozoïdes, ainsi que des débris (particules indésirables) de formes très aléatoires.

La grande difficulté réside dans la séparation des spermatozoïdes des autres particules. Cette procédure est basée sur la segmentation. C'est une étape de traitement cruciale pour permettre une évaluation objective et correcte des paramètres de sperme. Différentes études ont été développées pour l'estimation des paramètres de sperme, soit animal tel que les spermatozoïdes de rats (Yaheng et al., 2010 ; Hasikin et al., 2016), des moutons (Ouadi et al., 2015), ou bien des humains (Carillo et al., 2007- Basoeki et al., 2016). Certains chercheurs se sont concentrés sur la segmentation et la détection de l'acrosome du spermatozoïde qui se trouve dans la tête tandis que d'autres ont opté pour la segmentation de la structure complète du sperme (c'est-à-dire la tête, le milieu et la queue).

Le tableau ci-dessous (Tableau II.2) énumère des travaux de recherche antérieurs qui ont pour objectif l'automatisation de l'analyse du sperme.

Tableau II.2. Résumé des travaux de recherche pertinents pour la segmentation et l'identification des spermatozoïdes.

| Auteurs | Année | Méthode utilisée | Parties détectées du spermatozoïde | Nombre de spermatozoïdes analysés | Paramètres d'évaluation utilisés |
|----------------------------|-------|---|------------------------------------|-----------------------------------|---|
| Henry Carrillo et al. | 2007 | Prétraitement : oui Seuillage Otsu Opérations morphologique | La tête + la partie intermédiaire | Mono-spermatozoïdes | Accuracy : Tête : 89.5 % Partie intermédiaire : 85% |
| Vahid Reza Nafisi et al. | 2007 | Prétraitement : oui Méthodes de soustraction de fond + Seuillage Otsu + Caractéristiques de l'ellipse | La tête | Multi-spermatozoïdes | Accuracy: 84% |
| V.S. Abbiramy et al. | 2010 | Prétraitement : oui Filtre médian + algorithme de partage des eaux | Toutes les parties | Mono-spermatozoïdes | Pas de paramètres. |
| Guihai luo et al. | 2010 | Prétraitement : oui Méthode d'entropie maximum 2D + Filtre de Canny | Toutes les parties | Multi-spermatozoïdes | Temps d'exécution |
| Yaheng Ren et al. | 2010 | Prétraitement : non Opérations morphologiques + seuillage amélioré d'Otsu | La tête | Multi-spermatozoïdes | Temps d'exécution : 11.5 secondes |
| Ravanfar et al. | 2011 | Prétraitement : oui Seuillage + Algorithme partage des eaux | La tête | Multi-spermatozoïdes | MSE = 2.726 |
| Hatef Seyed Mahdavi et al. | 2011 | Prétraitement : oui Operations morphologiques + Caractéristiques de l'ellipse | La tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | Accuracy : 94% |

| | | | | | |
|-------------------------------|------|--|------------------------|----------------------|---|
| Ahmad Bijar et al. | 2012 | Prétraitement : oui Maximisation de l'Espérance basée sur l'entropie (EM) + Chaîne aléatoire de Markov (MRF) + Classifieur Bayésien | Toutes les parties | Mono-spermatozoïdes | Accuracy : 96.82% Sensitivity: 97.52 % Specificity: 95.27% |
| Qiaoliang Li et al. | 2012 | Prétraitement : oui Modélisation gaussienne du fond + Opérations morphologiques | La tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | Accuracy : 95.86 % Error Rate: 4.15 % |
| Seyed Vahab Shojaedini et al. | 2012 | Prétraitement : non Transformée en ondelettes discrètes 2D | La tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | Probabilité de détection: 87% Probabilité de fausse détection : 4% |
| Seyed Vahab Shojaedini et al. | 2014 | Prétraitement : non Algorithme partage des eaux + Segmentation d'éléments multi-structures + segmentation à seuil dynamique | Toutes les parties | Multi-spermatozoïdes | True positive rate : 75.62% False positive rate: 3% |
| Nandini M. et al. | 2014 | Prétraitement : non Segmentation par opérations morphologiques + Algorithme balayage des lignes | Toutes les parties | Multi-spermatozoïdes | Accuracy: 70% |
| Priyanto Hidayatullah et al. | 2014 | Prétraitement : oui Seuil d'Otsu, Opérations morphologiques, Détection des caractéristiques de l'ellipse | La tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | Accuracy: 90.97 % |
| Ouadi Beya et al. | 2015 | Prétraitement : oui Maximisation d'entropie, Opérations morphologiques, Sac des mots (Speeded Up Robust Features. (SURF); Histogram of Oriented Gradients (HOG); Local Binary Patterns (LBP)). Classifieur SVM | La tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | Accuracy: 0.94 % Recall: 0.95 % RMSE: 8.05% |
| Fatemeh Ghasemian et al. | 2015 | Prétraitement : oui Ondelettes et Filtre de Sobel pour la squelettisation | Toutes les parties | Mono-spermatozoïdes | Accuracy : 90% |
| Fariba Shaker et al. | 2016 | Prétraitement : non HSV histogramme + Seuillage Otsu + Filtre de Canny + Contour actif GVF (Gradient Vector Flow) | La tête et le flagelle | Mono-spermatozoïdes | Accuracy : Tête: 92% Flagelle : 96% |

| | | | | | |
|----------------------------------|------|--|--------------------|----------------------|---|
| Hario Baskoro Basoeki et al. | 2016 | Prétraitement : non Soustraction de fond (Gaussien unique) + Opérations morphologiques +, détection de contours | La tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | F-mesure: 0.853 |
| Hasikin et al. | 2016 | Prétraitement : non Classification à base de pixel et segmentation en régions | Toutes les parties | Multi-spermatozoïdes | Accuracy: 95.74% |
| Leonardo.F. Urbano et al. | 2017 | Prétraitement : oui Le filtre gaussien + Filtre Laplacien de Gauss (LoG) + le seuillage Otsu + filtre probabiliste commun d'association de données (JDPAF) | La tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | Accuracy : 93% pour le suivi 73% pour la motilité |
| Khalifa et al. | 2018 | Prétraitement : oui HSV seuillage + opérations morphologiques + mesure du centre de l'objet | Tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | Accuracy : 94.3% |
| M F Syahputra et al. | 2018 | Prétraitement : oui Filtre Gaussien + seuillage des images + méthode de moment invariant | Tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | Accuracy: 80.77%. Time: 0.4369 seconds. |
| Sayed Vahab Shojaedini et al. | 2018 | Prétraitement : non Moment de Zernike + Opérations Morphologiques | Tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | True Positive rate : 90% |
| Suwen Qi et al. | 2019 | Prétraitement : Non Mixture de gaussiennes + Segmentation par seuillage | Tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | Accuracy : 92% Sensitivity: 92% Specificity: 91.3% |
| Fateme Mostajer Kheirkhah et al. | 2019 | Prétraitement : oui Algorithmes de seuillage basés sur l'hybridation de kittler Adaptative AWAS algorithm | Tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | Detection : Accuracy :77.1% Precision :79.1% F-measure :90.1% Sensitivity:90.8% Tracking: Error rate:93% Time:1.86 s |
| R.R. Maggavi et al. | 2019 | Prétraitement : non Soustraction de fond + Segmentation par seuillage | Tête uniquement | Multi-spermatozoïdes | Pas de paramètres |

II.3.2 TRAVAUX SUR LA SEGMENTATION DES SPERMATOZOÏDES

Le tableau ci-dessus présente les différentes études sur l'estimation, soit de la morphologie (Ghasemian et al., 2015), soit de la motilité et du suivi (Shojaedini et al., 2014), soit la concentration (Hidayatullah et al., 2014). Les images microscopiques utilisées dans les recherches citées diffèrent d'une recherche à l'autre ce qui pose un problème d'évaluation et de comparaison entre les méthodes proposées. Néanmoins, toutes ces méthodes ont une étape commune et essentielle qui est la détection des spermatozoïdes qui consiste à réaliser la segmentation de ceux-ci pour les séparer de leur arrière-plan. Il y a peu d'approches qui ne nécessitent pas un prétraitement et une réduction de bruits pour améliorer la qualité d'images avant que l'objet d'intérêt ne soit segmenté (Nandini et al., 2014 ; Shaker et al., 2016). Pour les méthodes qui ont utilisé un prétraitement, on trouve le travail de (Carillo et al., 2007; Ouadi Beya et al., 2015) ils ont utilisés des méthodes dans le domaine spatial (pixels). Par contre, Ghasemian et ses collègues (Ghasemian et al., 2015) sont passés au domaine des ondelettes (temps-fréquence) pour séparer les spermatozoïdes de l'arrière-plan.

Nous détaillons ci-dessous, les différentes techniques de segmentations implémentées par les chercheurs cités dans le tableau II.2.

a) Segmentation par seuillage

En 2010, les auteurs dans (Abbiramy et al., 2010) ont proposé une technique de détection de la motilité des spermatozoïdes basée sur le filtre Laplacien et le filtre Médian comme étape de prétraitement. Ensuite, ils ont segmenté les images en utilisant un seuillage simple et une opération morphologique avec un processus de marquage. La méthode différentielle est appliquée pour réduire la complexité et accélérer le suivi des spermatozoïdes. Les performances de cette méthode dépendent des distances entre les spermatozoïdes. Par conséquent, elle conduit à des erreurs significatives dans les échantillons à haute densité où les spermatozoïdes sont très proches les uns des autres.

Un an plus tard, Mahdavi et ses collaborateurs (Mahdavi et al., 2011) ont pensé à tirer profit de la forme elliptique de la tête du spermatozoïde pour rechercher sur l'image les blobs (agrégats de pixels connexes) ayant cette forme. Un seuillage simple a été effectué pour créer une image binaire à partir de l'image débruitée. La valeur du seuil est choisie après plusieurs tests expérimentaux. L'élimination des pixels mal classés est effectuée par des opérateurs morphologiques. Pour renforcer la détection des vrais spermatozoïdes, ils ont utilisé les caractéristiques géométriques des objets étiquetés comme le rapport entre le grand axe et le petit axe de l'ellipse pour éliminer les faux spermatozoïdes.

En 2012, Qiaoliang, et ses collègues (Qiaoliang et al., 2012) ont utilisé des routines de la librairie OpenCV pour détecter et compter les spermatozoïdes. La modélisation gaussienne du fond est utilisée pour filtrer les objets lumineux indésirables. Les résultats ont atteint une précision de 95% avec la vidéo en temps réel. La limitation de cette étude était l'inadéquation du nombre des

spermatozoïdes par rapport à la méthode manuelle : les spermatozoïdes chevauchants ou se touchants se comptaient comme un seul spermatozoïde.

En 2017, afin de détecter un spermatozoïde dans une image, les auteurs dans (Urbano et al., 2017) ont appliqués un filtre gaussien pour lisser l'image bruitée puis ont utilisé le filtre Laplacien de Gaussienne (LoG) pour détecter les contours. L'image binaire segmentée a été obtenue en utilisant la méthode du seuillage optimal d'Otsu (Otsu, 1979) suivie de nombreuses opérations morphologiques. À la fin, chaque objet est étiqueté afin de pouvoir séparer les objets d'intérêt (le spermatozoïde) du fond (débris et liquide séminal), en calculant les coordonnées des centroïdes et les dimensions de chaque spermatozoïde.

En 2018, les auteurs dans (Khalifa et al., 2018) ont proposé un système de comptage et de suivi des spermatozoïdes dans les vidéos. Ils ont d'abord transformé les images de l'espace de couleurs RVB (Rouge-Vert-Bleu) vers l'espace HSV (Hue-Saturation-Value). Ensuite, un processus de seuillage est appliqué puis ils ont calculé le centre des groupes de pixels pour compter tous les blobs qui indiquent le nombre des spermatozoïdes. Le dessin d'un rectangle autour des groupes de pixels (Bounding box) est effectué lors de l'étape finale à des fins de suivi.

Plus tard, les chercheurs dans (Suwen et al., 2019) ont lancé une méthode pour calculer automatiquement la classification de la motilité des spermatozoïdes à partir de la vidéo microscopique. La méthode est basée sur le modèle de mixture des gaussiennes pour détecter les cibles en mouvement. La reconnaissance simultanée de la motilité progressive vers l'avant du spermatozoïde, la motilité non progressive et la représentation de sa trajectoire, puis une segmentation par seuillage est réalisée pour identifier le spermatozoïde de motilité dans la modélisation de fond, permettant de compter les trois types de classification de mouvement ci-dessus. La méthode ne perd pas le sperme mobile lorsque le sperme mobile entre en collision avec des impuretés, de sorte que la précision, la sensibilité et la spécificité de la classification et du comptage seront grandement améliorées.

Tous les travaux cités précédemment sont basés sur des techniques de seuillage pour la segmentation. Leurs points faibles résident dans le choix du seuil. Leurs performances sont très sensibles aux valeurs choisies : des légères erreurs dans le choix du seuil optimal peuvent entraîner des valeurs erronées de la concentration des spermatozoïdes.

b) Segmentation par opérations morphologiques

Comme première solution pour réduire les inconvénients des techniques de segmentation par seuillage, d'autres chercheurs ont choisi de procéder à une segmentation basée sur les opérations morphologiques. Ces opérateurs fournissent des outils polyvalents et puissants pour la segmentation d'images.

Les chercheurs dans (Ravanfar et al., 2011) ont appliqué la technique du filtre médian et de la segmentation par algorithme de partage des eaux pour détecter les spermatozoïdes dans une image à faible contraste. Le filtre à particules est ensuite utilisé pour obtenir le suivi des objets. Une autre technique implémentée dans (Bijar et al., 2012) où les auteurs ont utilisé un seuil simple pour construire un masque contenant tous les pixels candidats qui peuvent appartenir à la tête et au milieu du spermatozoïde. Ensuite, ils ont utilisé une méthode hybride pour créer une image débruitée. Le noyau et le milieu du sperme sont segmentés par une méthode basée sur un classifieur bayésien qui utilise l'algorithme de maximisation des entropies (EM) basé sur l'entropie et le modèle de champ aléatoire de Markov (MRF). Les artefacts et les débris dans les images affectent les performances de ces méthodes.

Durant la même année, les auteurs dans (Shojaedini et al., 2012) ont proposé une méthode basée sur des tests d'hypothèse pour séparer les spermatozoïdes des autres particules, et une méthode basée sur la transformation en ondelettes 2D et la cartographie locale. La segmentation par partage des eaux modifiée par le concept d'entropie floue a été introduite dans un autre article (Shojaedini et al., 2014) pour la détection des spermatozoïdes. Cette méthode a utilisé la segmentation basée sur l'algorithme de partage des eaux pour sélectionner certains « candidats » principaux à être des spermatozoïdes. Ensuite, l'entropie décision floue a été appliquée pour confirmer les spermatozoïdes corrects et rejeter les faux. La segmentation par l'algorithme de partage des eaux est une segmentation basée sur les régions qui est sensible à la distance entre les spermatozoïdes ce qui la rend inadaptée pour des échantillons très concentrés.

Dans l'étude (Arkanfari et al., 2018), Reza Arkanfari et ses co-auteurs ont proposé une nouvelle méthode pour détecter les spermatozoïdes dans les images microscopiques. Celle-ci est basée sur l'estimation des moments de Zernike suivie d'un traitement spatial proposé par (Shojaedini et al., 2017). La méthode proposée comprend deux étapes : dans la première étape, les moments de Zernike sont estimés pour sélectionner les pixels candidats appartenant aux spermatozoïdes et dans la seconde étape, les spermatozoïdes corrects sont confirmés en utilisant le concept de connectivité et les opérations morphologiques.

D'autres méthodes utilisent la concaténation de plusieurs étapes géométriques. Elles font appel à plusieurs paramètres comprenant la surface de la tête, le périmètre de la tête, la longueur et la largeur de la tête, la longueur de la queue, l'orientation et l'excentricité pour détecter les spermatozoïdes, ce qui conduit finalement à une correspondance d'ellipse. Pour améliorer la procédure de détection, ces méthodes visent généralement à éliminer les objets indésirables dont la forme diffère des spermatozoïdes (Nafisi et al., 2007 ; Hidayatulah et al., 2014). D'autres méthodes utilisent des descripteurs basés sur la texture pour la détection des spermatozoïdes, en particulier pour détecter les anomalies de la tête (García-Olalla et al., 2015).

Toutes les méthodes présentées ci-dessus échouent dans la phase de segmentation lorsque l'image microscopique comporte des impuretés dont la forme est proche de celle d'un spermatozoïde.

c) Segmentation par détection de contours

Les méthodes discutées dans les sections précédentes visent à segmenter une image en partitionnant l'image en un ensemble de pixels connexes (segmentation par région). Les techniques basées sur les contours, en revanche, cherchent à extraire directement les contours des objets de l'image. Les problèmes inhérents à l'imagerie microscopique du sperme sont : la présence de débris, la faible luminosité et le faible contraste. Dans cette section, nous allons présenter quelques techniques de cette catégorie.

En 2010, Guihai lu et ses collaborateurs (Guihai lu et al., 2010) ont utilisé une segmentation à entropie maximale bidimensionnelle basée sur l'hybridation des deux opérateurs : premièrement, une segmentation en régions de l'image du sperme est effectuée, ensuite le contour réel des spermatozoïdes est détecté en utilisant le détecteur de Canny. Enfin, la segmentation à entropie maximale en 2D est utilisée pour la segmentation des cibles d'image de sperme et de leurs bords selon différents seuils, résolvant ainsi les problèmes de segmentation imprécis en raison de l'image locale floue et chevauchante des spermatozoïdes.

Le travail de Ghasemian et al. (Ghasemian et al., 2015) a pour but de détecter et analyser différentes parties du sperme humain. Tout d'abord, ils ont atténué les bruits dans l'image et amélioré dans une large mesure le contraste de l'image par application des ondelettes. Ensuite, ils ont reconnu les différentes parties du sperme (par exemple, la tête et la queue) et ils ont analysé la taille et la forme de chaque pièce par utilisation du filtre de Sobel. Enfin, l'algorithme classe chaque sperme comme normal ou anormal. Les malformations de la tête, de la pièce intermédiaire et de la queue d'un spermatozoïde peuvent être détectées par cette méthode.

En 2016, les auteurs dans (Shaker et al., 2016) ont proposé une nouvelle technique pour la détection de la tête et la queue des spermatozoïdes. Pour la détection de la tête, ils ont utilisé une combinaison entre le filtre de Canny et le contour actif du Gradient Vector Flow (GVF) et pour la queue, ils ont utilisé la courbure et l'énergie des contours. Toutefois, l'extraction des contours corrects nécessite des calculs approfondis. Cela rend les algorithmes basés sur les contours très lents et inadaptés aux situations pragmatiques.

Toutes les techniques discutées précédemment ont été confrontées à plusieurs problèmes qui peuvent se résumer à : la confusion entre un vrai spermatozoïde et les débris de taille similaire qui fausseront les résultats et la faible adaptabilité de la technique en fonction de la qualité de l'éclairage des échantillons de sperme.

II.3.3 TRAVAUX SUR LA DETECTION DE MOUVEMENT DES SPERMATOZOÏDES

La détection des spermatozoïdes mobiles repose sur l'utilisation des techniques classiques de détection et d'estimation du mouvement dans une image. Les auteurs dans (Nafisi et al., 2007 ; Nandini et al., 2014) ont exploité la technique de soustraction de fond pour la détection des spermatozoïdes mobiles dans l'image. La modélisation du fond par gaussienne simple était utilisé dans le travail de Hario (Basoeki et al., 2016). Dans le travail de Suwen et ses collaborateurs (Suwen et al., 2019), le fond a été modélisé par une mixtiture de plusieurs gaussiennes. Le flux optique a également été exploité pour identifier les spermatozoïdes et décrire leurs mouvements ; malheureusement, cette dernière souffre du problème des mouvements rapides des queues de sperme qui couvrent une large zone et provoquent des difficultés majeures dans l'identification de l'emplacement exact des spermatozoïdes. L'intensité peut être considérée comme une caractéristique importante qui aide à extraire les têtes des spermatozoïdes du fond de l'image dans les images microscopiques du sperme.

II.4 ARCHITECTURE FONCTIONNELLE D'UN SYSTEME CASA

De par les travaux cités dans les sections précédentes, nous pouvons déduire qu'il est possible de réaliser différents types des systèmes CASA malgré que ceux-ci accomplissent tous un objectif de nature relativement similaire. Il en est de même pour les architectures permettant de faire le séquençement des étapes principales employées en reconnaissance des spermatozoïdes. Autrement dit, malgré que les algorithmes utilisés aux plus bas niveaux puissent grandement varier d'un cas à l'autre, l'architecture à plus haut niveau est en tout point similaire d'un cas à l'autre.

La mise en place d'un système CASA complet requiert deux étapes majeures :

- la détection des spermatozoïdes à partir des séquences vidéo ;
- l'estimation des caractéristiques du sperme analysé permettant de décrire et mesurer la morphologie, la concentration, la motilité et le suivi d'un spermatozoïde.

La Figure II.5 représente cette architecture sous sa forme la plus simplifiée.

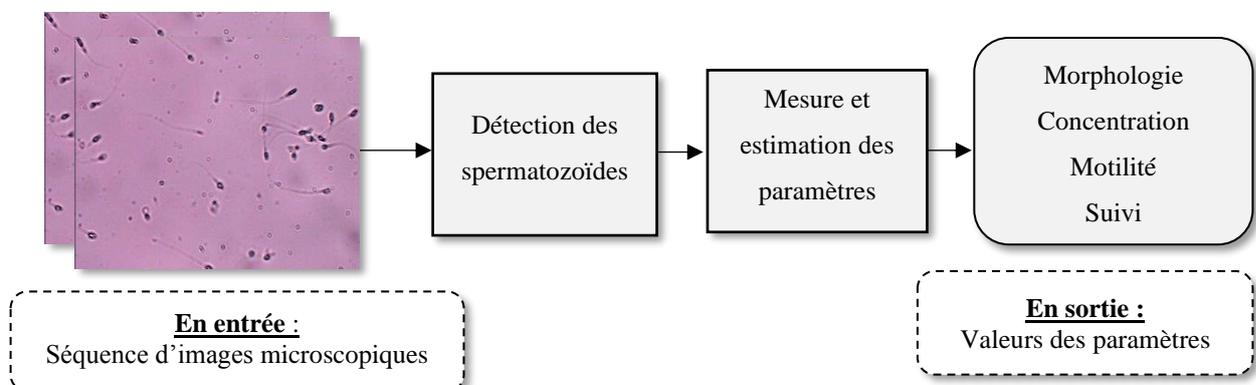


Figure II.5: Architecture fonctionnelle d'un système CASA.

II .4.1 DETECTION DES SPERMATOZOÏDES

Pour la réalisation de cette première étape d'un système CASA, nous avons vu dans la section II.3.2 une multitude de techniques permettant la détection du spermatozoïde. Il existe celles qui se basent sur la détection de la tête uniquement et celle qui détectent les trois parties.

Cette étape est réalisée à l'aide de quatre modules. L'architecture générique de cette étape est illustrée par la figure II.6.

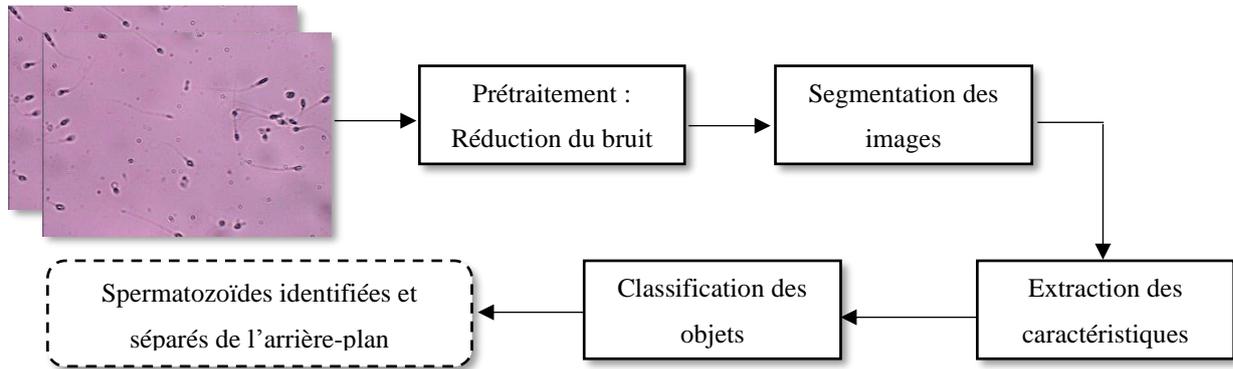


Figure II.6 : Etapes de détection des spermatozoïdes dans un CASA.

Dans ce qui suit, nous allons développer le rôle de chacun des modules présents dans l'architecture générique de l'étape de détection des spermatozoïdes :

a) Module de prétraitement - Réduction du bruit

En imagerie microscopique, les images sont souvent acquises à différents plans focaux, à différents intervalles de temps et dans différents canaux spectraux. Il en résulte des images de qualité médiocre tant au niveau de l'éclairage que du contraste. L'amélioration de ces images est une étape primordiale pour nous permettre de tirer pleinement profit lors des étapes ultérieures.

Le prétraitement d'image est le processus d'amélioration de l'apparence d'une image pour aboutir à un meilleur contraste ou une meilleure visualisation de certaines caractéristiques et pour faciliter par la suite l'analyse d'image. Avec l'amélioration de l'image, la visibilité des fonctionnalités sélectionnées dans une image peut être améliorée, mais le contenu inhérent des informations ne peut pas être augmenté.

La procédure du prétraitement d'une image peut comprendre : un changement de l'espace des couleurs, une sélection d'un canal de couleur parmi d'autres, une manipulation d'histogrammes pouvant être une normalisation ou une égalisation, un filtrage linéaire ou non linéaire, etc...

b) Module de segmentation

La phase la plus importante dans l'analyse des images microscopiques est la segmentation. Ce processus sert à partitionner une image numérique en régions disjointes (sans chevauchement) où chacune correspondant généralement à un objet. Une fois isolés, les caractéristiques de ces objets peuvent être mesurés et classifiés (Davies ER et al., 2012). Les erreurs dans le processus de segmentation conduisent certainement à des inexactitudes dans toute analyse ultérieure. De plus, l'emplacement exact des limites des objets est un sujet à interprétation, et différents algorithmes de segmentation produisent souvent des résultats différents, mais non erronés.

c) Module d'extraction de caractéristiques

L'objectivité de toute tâche de traitement d'image nécessite une mesure quantitative d'une zone d'intérêt extraite d'une image. Dans ce module, l'objectif est la mesure des caractéristiques de chacun des objets (spermatozoïdes) segmentés. Les caractéristiques mesurées dépendent de l'application. Il peut être utilisé simplement pour fournir une mesure de la morphologie ou de la structure d'un objet en définissant ses propriétés en termes de surface, de périmètre, d'intensité, de couleur, de forme, etc. Il peut également être utilisé pour distinguer les objets en mesurant et en comparant leurs propriétés.

d) Module de classification

La classification est l'étape qui définit la nature des objets détectés dans l'image. En supposant que les objets de l'image ont été segmentés et les caractéristiques mesurées, la classification les identifie en affectant chacun d'eux à l'une des catégories ou classes précédemment établies. Il existe plusieurs approches mathématiques qui peuvent être adoptées pour le problème de classification.

II.4.2 MESURE ET ESTIMATION DES PARAMETRES DU SPERME

Un système CASA complet sert à évaluer numériquement les caractéristiques de l'échantillon de sperme telles que la morphologie, la concentration, la motilité et les paramètres cinétiques des spermatozoïdes et même définir le type de motilité de chacun en appliquant les algorithmes de suivi et d'estimation de trajectoire. Pour la morphologie, l'estimation nécessite moins de spermatozoïdes dans une image fortement zoomée afin de pouvoir déterminer la morphologie pour chaque partie à part. Pour la concentration, les systèmes CASA se basent sur la détection des spermatozoïdes complet (OMS, 2010). Pour la motilité et les paramètres cinétiques, la mesure dépend du nombre de spermatozoïdes mobiles tandis que le suivie dépend du type de mouvement et de trajectoires de ces spermatozoïdes mobiles. Le problème posé ici c'est la vitesse des spermatozoïdes ainsi que les occlusions entre les spermatozoïdes dans la même image.

Le système CASA que nous avons proposé et développé au cours de notre projet de thèse vise à mesurer la concentration, la motilité et les paramètres cinétiques des spermatozoïdes. Nous avons

préférée laisser l'étude de la morphologie des spermatozoïdes dans un projet ultérieur (travaux d'améliorations futures).

II.5 DESCRIPTION DE QUELQUES CASA COMMERCIALISES

Avec l'émergence de la numérisation en imagerie microscopique et la combinaison de l'ordinateur et du microscope à contraste de phase, le système CASA primaire a été développé pour la première fois au milieu des années 1980 (Mortimer, 2000). Il a été initialement utilisé pour analyser les caractéristiques cinétiques des spermatozoïdes telles que la concentration et les proportions de motilité progressive chez de nombreuses espèces animales, y compris une large application dans les laboratoires de production animale domestiquée et la toxicologie de la reproduction. Pour l'analyse de sperme humain, le premier instrument commercial CASA a été lancé sur le marché comme méthode de suivi du mouvement des spermatozoïdes.

L'utilisation de ces systèmes pour l'évaluation du sperme animal a donné de très bons résultats, malheureusement, appliqués au sperme humain, ils n'ont pas montré une précision suffisante pour des applications pratiques en raison de limitations fondamentales, notamment les difficultés inhérentes à des nombreux échantillons du sperme humain provoquées par l'agrégation des spermatozoïdes et les gros débris de fond qui empêchaient une analyse précise de l'image numérique et l'absence des critères de normalisation (Mortimer et al., 2015).

Dans le but de normaliser les protocoles et les applications de CASA pour l'évaluation du sperme humain, le groupe d'intérêt spécial sur l'andrologie de l'ESHRE a convoqué trois réunions de consensus internationales (Mortimer, 1996 ; Mortimer et al., 2000), au cours desquelles les limites de CASA ont été abordées et des recommandations ont été formulées. Toutefois, au cours des 20 années qui se sont écoulées depuis la publication des directives ESHRE les plus récentes, un bon nombre des problèmes qui ont entravé les systèmes antérieurs ont été résolus grâce à des innovations majeures en bio-ingénierie et en technologie informatique.

Dans ce qui suit, nous allons présenter une liste non exhaustive de CASA commercialisés et opérationnels dans des laboratoires et cliniques d'andrologie dans le monde.

a) L'analyseur de sperme Hamilton-Thorne (Hamilton Thorne Research, Beverly, MA, USA)

Ce système comporte les modules de base qui sont la concentration et la mobilité (Liu et al., 1991 ; Blanchard et al., 2011). Des modules d'analyses complémentaires tels que la vitalité et la morphologie peuvent également être installés si besoin. Il comporte un microscope HT Zeiss (Axio Lab.A1) et une caméra CM-040 GE. Il tourne sous le logiciel « Hamilton Thorne CASA II Human Clinical Software » (voir figure II.7).

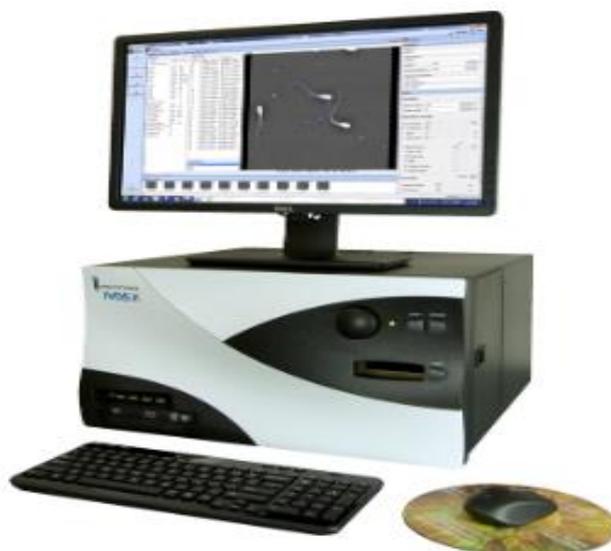


Figure II.7: Analyseur de sperme Hamilton-Thorne (Hamilton, 2020).

b) L'analyseur de la qualité du sperme (CFT-9200)

Ce système a été développé par « Beijing Aerospace Ruiqi Technology Development - Chine) (Hu et al., 2012 ; Zinaman et al., 1996). Il permet la coloration fluorescente de l'ADN, basé sur le fait que les spermatozoïdes peuvent être spécifiquement colorés par des colorants fluorescents de l'ADN, qui peuvent ainsi être distingués des particules non spermatiques sous un microscope fluorescent. Ce type de CASA est évidemment meilleur que les systèmes CASA de coloration non fluorescente (Amann et al., 2004 ; OMS, 2010) pour l'analyse de la concentration des spermatozoïdes avec une grande précision (voir figure II.8).



Figure II. 8 : Analyseur de la qualité du sperme (CFT-9200) (Bio-equip, 2020).

On peut aussi citer les CASA suivants sans détailler leurs fonctionnalités :

- CRISMAS (Copenhague Rigshospitalet Image House System - Danemark) qui permet l'analyse de la motilité des spermatozoïdes (Larsen et al., 2000 ; Vested et al., 2011) ;
- SCA (Sperm Class Analyzer - Espagne) (Lampiao, 2009) ;
- CTS Motion Analysis (Cell Trak Ssystem Motion Analysis - USA) (Hurowitz et al., 1995; Centola, 1996);
- Cellsoft (Cryo Resources - USA) (Hurowitz et al., 1995; Akashi et al., 2010);
- WLJY-9000 (Chine) (Akashi et al., 2010) ;
- SMAS (Sperm Motility Analysis System - Japon) (Akashi et al., 2010).

Les systèmes CASA, qu'ils soient anciens ou actuels, nécessitent encore l'intervention d'opérateurs. Le système CASA idéal n'aura besoin de l'opérateur que pour la tâche de maintenance dans le cas de panne, ou bien pour placer l'échantillon de sperme sur l'appareil et démarrer le processus d'analyse (Amann et al., 2004).

II.6 CONCLUSION

Dans ce chapitre, nous avons défini le concept général de l'analyse du sperme assisté par ordinateur puis nous avons présenté un état de l'art sur l'évolution des techniques d'automatisation de l'analyse du sperme humain ou animal tant pour l'étape de segmentation que pour l'étape de détection du mouvement. Nous y avons présenté l'architecture générique fonctionnelle d'un système CASA puis nous avons décrit quelques CASA actuellement commercialisés.

Dans le chapitre suivant, nous allons en premier lieu proposer l'architecture du CASA proposé ensuite nous développeront chacun de ses modules.

Chapitre III :

PROPOSITION D'UN SYSTEME CASA

III.1 INTRODUCTION

Après avoir exposé les différents travaux de la littérature concernant la procédure d'automatisation de l'analyse du sperme, et après avoir montré les différentes techniques adoptées pour chaque étape en insistant sur leurs avantages et leurs limitations, nous allons dans ce chapitre, présenter l'architecture matérielle et fonctionnelle du CASA proposé durant notre projet de thèse. Nous développerons en détail chacune des étapes effectuées en insistant sur les fondements théoriques des différentes techniques adoptées.

III.2 ARCHITECTURE FONCTIONNELLE DU CASA PROPOSE

Pour rappel, le système CASA que nous proposons a pour objectif l'estimation de la concentration, de la motilité ainsi que les paramètres cinétiques des spermatozoïdes présents dans un échantillon de sperme humain. Nous avons aussi étalé un certain nombre de problèmes de mesure de ces caractéristiques qui sont inhérents au sperme humain à la différence des autres animaux. Cependant, la phase de détection des spermatozoïdes dans l'échantillon de sperme est préalable à toute étape d'évaluation. Le type de stratégie adoptée pour cette étape influe directement sur les performances du système.

Pour que notre CASA fournisse des estimations précises et objectives des caractéristiques citées, nous avons proposé l'architecture fonctionnelle illustrée dans la figure III.1. Dans ce qui suit, nous allons décrire, en détail, chaque module composant le synoptique fonctionnel de la figure III.1.

III.2.1 LE MODULE DE PRETRAITEMENT

Dans presque toutes les applications d'imagerie médicale, l'hypothèse typique est la contamination de l'image par une source de bruit. À ce titre, les algorithmes traditionnels de réduction du bruit peuvent être utilisés. Cependant, dans le cas de la microscopie, l'imagerie est contaminée par trois principales sources de bruit, inhérentes à l'appareil de détection de microscopie numérique. Le bruit sombre correspond au bruit électronique généré par l'agitation thermique des électrons. Plus précisément, les vibrations des atomes de silicium dans le substrat du capteur de la caméra libèrent des électrons même si aucun photon incident n'est détecté. Les capteurs de haute qualité ont un refroidisseur pour réduire le bruit sombre. (Meinzel et al., 2018). Une variété d'algorithmes d'amélioration d'image a déjà été développée et utilisée pour des applications microscopiques. Ces algorithmes peuvent être classés en deux catégories : les méthodes dans le domaine spatial et les méthodes dans le domaine transformé (Fourier ou Ondelettes).

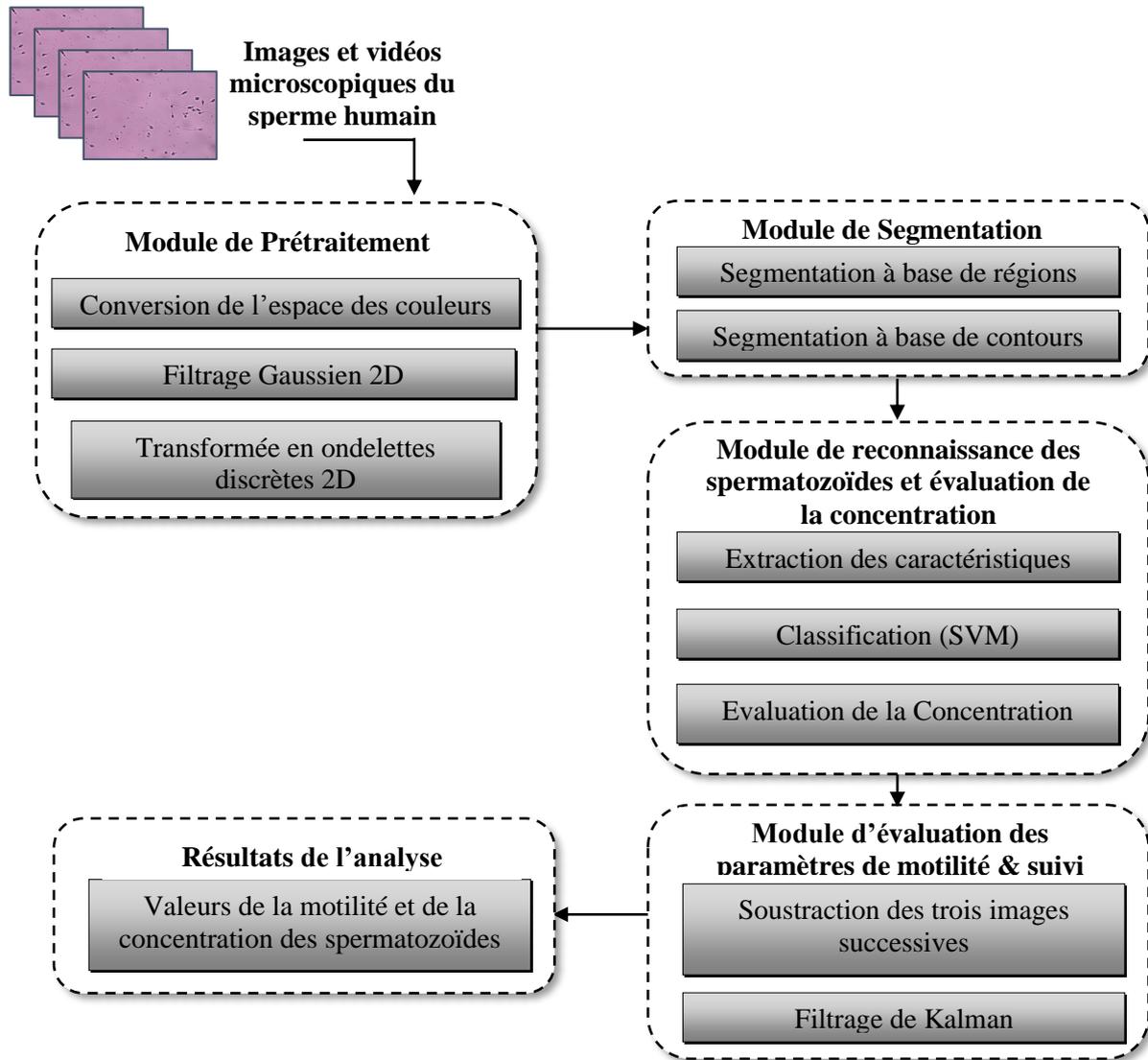


Figure III.1: Architecture fonctionnelle du CASA proposé.

Les méthodes du domaine spatial comprennent des opérations effectuées sur une image entière ou sur une région locale sélectionnée sur la base statistique d'images. Les techniques appartenant à cette catégorie comprennent : la normalisation et l'égalisation de l'histogramme, la moyenne des images, le filtrage linéaire et le filtrage non linéaire.

Les méthodes d'amélioration d'un domaine transformé manipulent les informations d'image dans les domaines tel le domaine de Fourier et le domaine d'ondelettes. Souvent, des informations d'image intéressantes ne peuvent pas être séparées dans le domaine spatial mais peuvent être isolées dans le domaine transformé. Par exemple, on peut amplifier certains coefficients dans le domaine de Fourier puis récupérer l'image dans le domaine spatial pour mettre en évidence le contenu d'image intéressant. La transformée en ondelettes est un autre outil puissant qui a été développé ces dernières années et utilisé pour l'amélioration de l'image.

III.2.1.1 Choix d'un espace des couleurs robuste

Par analogie avec le système visuel humain, un capteur d'images, ou caméra, fait l'acquisition d'une scène réelle pour la convertir en une matrice de pixels codés sur un vecteur à trois composantes dans l'espace RVB (Rouge, Vert, Bleu). Il existe d'autres espaces couleurs qui ont été construits en se basant sur différentes propriétés physiques, physiologiques ou psychologiques de la perception de la couleur. Le choix d'un espace de couleur est donc une étape importante en analyse d'images car il influence ses résultats. Cependant, ce choix est rendu difficile par la multitude et la diversité des espaces impliquant des présentations diverses, parfois discordantes.

Pour effectuer des calculs complexes sur une image microscopique, l'espace YCbCr est bien adapté car il est le plus proche de la perception humaine tout en conservant les propriétés d'additivité. Il nous permet de séparer les composantes de luminance et de chrominance; la composante luminance ayant une résolution supérieure aux composantes couleurs. De plus, l'espace YCbCr est un espace linéaire, donc bien adapté au calcul du gradient vectoriel pour la recherche des contours. Nous avons adopté cet espace de couleurs lors de la réalisation de notre CASA pour les raisons énoncées et surtout pour l'indépendance existante entre les trois (03) canaux et la stabilité de la composante Y lors d'un changement d'éclairage durant la capture des vidéos microscopiques.

La conversion de l'espace RVB vers l'espace YCbCr est obtenue par l'équation matricielle suivante (Alfred et al., 2001) :

$$\begin{bmatrix} Y \\ Cb \\ Cr \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 16 \\ 128 \\ 128 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} +65.481 & +128.553 & +24.966 \\ -37.797 & -74.203 & +112.000 \\ +112.00 & -93.786 & -18.214 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix} \quad (\text{eq. III.1})$$

Une fois les trois valeurs YCbCr obtenues, nous n'avons gardé que la composante 'Y' pour le traitement suivant. L'image obtenue sur le canal 'Y' ressemble fortement à l'image de niveau de gris correspondante et de plus, elle est indépendante du niveau de l'éclairage de l'image initiale.

III.2.1.2 Types de bruit présent dans les images microscopiques

Deux types de bruit multiplicatif apparaissent souvent dans l'image microscopique : le bruit de chatoiement (speckle noise) et le bruit mixte Poisson-Gaussien (Abbot et al., 1979). Ces deux types de bruit sont appelés multiplicatifs dans le sens où leur variance n'est pas constante mais dépend des paramètres à estimer (Abbot et al., 1979). Le bruit de chatoiement apparaît généralement dans les processus d'acquisition impliquant un rayonnement cohérent et le bruit mixte Poisson-Gaussien dans les systèmes impliquant des procédures de comptage comme dans notre cas.

Le bruit mixte Poisson-Gaussien

Dans l'image microscopique, le bruit peut être classé en deux catégories : le bruit dépendant du signal et le bruit indépendant du signal. Le bruit dépendant du signal est modélisé par une distribution de « Poisson » obtenue à partir du comptage des photons et le bruit indépendant du signal est normalement modélisé par une distribution gaussienne (Starck et al., 1998).

Mathématiquement, on écrit :

$$y(s) = \gamma \cdot P(\lambda s) + n \quad (\text{eq. III.2})$$

Où : γ est une constante de gain qui module la prédominance de la contribution du bruit de Poisson dans le modèle. P est un processus aléatoire de Poisson et n est une variable gaussienne aléatoire de moyenne nulle. En d'autres termes, en supposant que les processus aléatoires de Poisson et de Gauss sont indépendants, pour chaque coordonnée de pixel $s \in \Omega$, nous avons (Foi et al., 2008 ; Jezierska, 2011) :

$$P(y(s) = g) = \frac{e^{-\lambda s}}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \times \sum_{p=0}^{+\infty} \frac{\lambda_s^p}{p!} e^{-\frac{(\gamma p - g)^2}{2\sigma^2}} \quad (\text{eq. III.3})$$

a) Le bruit de chatoiement (Speckle noise) :

L'existence du bruit de chatoiement est inhérente à cette méthode de détection. Elle présente des caractéristiques distinctives en termes de certitude et de caractère aléatoire (Ren et al., 2019). Le bruit de chatoiement peut être modélisé comme un bruit multiplicatif : le signal obtenu étant un produit du signal original et du bruit de chatoiement (Huang et al, 2017). Soit $I(i, j)$ un pixel de l'image bruitée, et soit $M(i, j)$ le même pixel mais sans bruit. Selon le modèle de bruit multiplicatif, l'équation (eq. III.4) exprime le lien entre $M(i, j)$ et $N(i, j)$ qui représente le bruit de chatoiement (Huang et al, 2017).

$$I(i, j) = M(i, j) \times N(i, j) \quad (\text{eq. III. 4})$$

Le bruit de chatoiement affecte également les valeurs du niveau de gris de l'image elle-même. Plus la variance du bruit de chatoiement est grande, plus son influence sur les valeurs de gris de l'image est importante, et plus il est difficile de récupérer l'image sans bruit.

III.2.1.3 Techniques de réduction du bruit

Les algorithmes de réduction du bruit existants s'adaptent aux sources de bruit de chatoiement et de bruit mixte Poisson-Gaussien par le biais de plusieurs stratégies. Les techniques d'amélioration par manipulation d'histogramme ont été utilisées pour améliorer visuellement les images où le résultat peut être utilisé comme une entrée dans un processus d'analyse d'images ; Les algorithmes utilisant le filtrage dans le domaine spatial ont pour but l'estimation des paramètres du bruit mixte Poisson-Gaussien et chatoiement dans leur formulation. Enfin, les algorithmes du domaine fréquentiel peuvent prendre en compte la nature stochastique du bruit et modéliser la distribution de

manière similaire sur les distances stochastiques. Toutes ces méthodes permettent la réduction efficace du bruit en imagerie microscopique.

a) Techniques de rehaussement par manipulation d'histogramme :

Les algorithmes ayant pour objectif l'amélioration de l'image par manipulation d'histogrammes sont couramment mis en œuvre pour le traitement d'images en général et médicales en particulier. De nombreuses méthodes d'amélioration d'image sont proposées au fil des années. A titre d'exemple, la technique d'égalisation de l'histogramme d'une image est la plus populaire. Principalement mise en œuvre dans le processus de rehaussement de la qualité visuelle de l'image en raison de sa facilité d'utilisation, de ses performances et de son adaptation avec presque tous types d'images (Ibrahim et al., 2007).

Dans ce qui suit, nous allons décrire le principe des techniques les plus utilisées dans le domaine du prétraitement des images médicales.

➤ Égalisation d'Histogramme (HE)

L'histogramme d'une image fournit des informations sur la répartition des pixels par leur valeur d'intensité. L'égalisation de l'histogramme a été largement appliquée pour améliorer le contraste et la luminosité de l'image. Cette technique répartit le regroupement des niveaux de gris dans l'histogramme afin de 'remapper' les niveaux de gris de l'image de manière à obtenir un histogramme uniforme (plat) (Abdullah-Al-Wadud et al., 2007).

L'histogramme cumulé et normalisé, noté $H_{cn}(k)$, représente la somme des valeurs de l'histogramme des pixels ayant un niveau de gris inférieur ou égal à k (eq. III.5) :

$$H_{cn}(k) = \frac{1}{(M \times N)} \sum_{i=0}^k H(i) \quad (\text{eq. III.5})$$

La formule d'égalisation d'histogramme est donnée par l'équation (eq. III.6) ci-dessous :

$$T(i, j) = (2^d - 1) \times H_{cn}[I(i, j)] \quad (\text{eq. III.6})$$

Où :

- $I(i, j)$: niveau de gris du pixel dans l'image non traitée (brute) ;
- $T(i, j)$: niveau de gris du pixel dans l'image traitée ;
- $H_{cn}()$: histogramme cumulé normalisé ;
- $M \times N$: dimensions de l'image en pixels (définition) ;
- d : dynamique de l'image en bits (pour le niveau de gris, il est généralement égal à 8 bits).

➤ Normalisation d'histogramme ou Etirement du contraste

Le contraste est l'un des aspects les plus importants de la visibilité d'un élément. La discrimination des détails repose sur le contraste, qui est la différence de luminosité entre les régions d'un même champ de vision. Le système visuel humain peut détecter (au mieux) ~100 différents niveaux de gris dans une scène visuelle, il est donc difficile de résoudre les caractéristiques qui ne sont que quelques valeurs de gris plus claires que leur environnement (Pawley et al., 2006 ; Johnson et al., 2012). Par conséquent, un contraste accru permet généralement une meilleure discrimination des détails. Cependant, les modifications qui augmentent le contraste peuvent masquer d'autres informations spatiales. Pour afficher une image en utilisant toute la gamme des valeurs de gris disponibles, le contraste est "étiré".

L'étirement du contraste fait que le pixel le plus clair devient blanc et le pixel le plus sombre devient noir, redistribuant les valeurs de gris intermédiaires sans modifier la forme de l'histogramme. Le but de ce traitement est d'exploiter toute la dynamique de codage de l'image. La transformation $T(i,j)$ de l'image initiale $I(i,j)$ est donnée par l'équation (eq. III.7):

$$T(i,j) = \left(\frac{2^d - 1}{N_{\max} - N_{\min}} \right) \times (I(i,j) - N_{\min}) \quad (\text{eq. III.7})$$

Où :

- $I(i,j)$: niveau de gris du pixel dans l'image non traitée (brute) ;
- $T(i,j)$: niveau de gris du pixel dans l'image traitée ;
- N_{\min} : Niveau de gris minimal extrait de l'histogramme ;
- N_{\max} : Niveau de gris maximal extrait de l'histogramme ;
- d : dynamique de l'image en bits (pour le niveau de gris, il est généralement égal à 8 bits).

➤ Égalisation d'Histogramme Adaptative Limitée par le Contraste (CLAHE)

A l'origine, l'égalisation adaptative limitée du contraste de l'histogramme (CLAHE) a été mise en œuvre pour l'imagerie médicale à faible contraste. Elle a produit de bons résultats qui la rendent très pertinente dans nombreux autres types d'images (Jinxiang et al., 2018 ; Pisano et al., 1998). Elle se base sur la méthode d'égalisation de l'histogramme mais elle diffère d'elle dans sa limite de contraste, elle commence par la division de l'image d'entrée en plusieurs régions qui ne se chevauchent pas après que l'égalisation de l'histogramme de chaque région ait été calculée. Ensuite, sur la base d'un éclairage souhaité pour l'expansion du contraste, on obtient un éclairage pour l'écrêtage des histogrammes. Ensuite, chaque histogramme est redistribué de manière à ce que sa hauteur ne dépasse pas un seuil. Le nouvel histogramme est différent de l'histogramme ordinaire, car l'intensité de chaque pixel est limitée à un maximum sélectionnable par l'utilisateur (Koonsanit et al., 2017).

b) Techniques utilisant le filtrage dans le domaine spatial

Les méthodes d'amélioration de l'image par filtrage dans le domaine spatial consistent à effectuer des opérations sur des pixels individuels de l'image originale I afin d'obtenir l'image améliorée G (Wu et al., 2010), comme décrit dans l'équation (eq. III.8) ci-dessous :

$$G(i,j)=T[I(i,j)] \quad (\text{eq. III.8})$$

Où T est une transformation de niveau de gris dans le traitement des pixels. Les méthodes du domaine spatial permettent d'améliorer l'image en utilisant soit des opérations globales sur l'ensemble de l'image, soit des opérations locales sur une région voisine de chaque pixel. Certaines méthodes du domaine spatial ont démontré un niveau d'amélioration significatif surtout dans domaine médical (Wu et al., 2010). Nous en citerons ci-dessous les méthodes les plus utilisés dans le domaine de l'imagerie microscopique médicale.

➤ Le Filtrage Gaussien

C'est l'une des méthodes du filtrage spatial. Plutôt que de pondérer tous les pixels d'entrée de manière égale comme le filtre moyennneur, il est préférable de réduire le poids des pixels voisins au fur et à mesure que leurs distances diminuent par rapport au pixel central. Couramment, Il est considéré comme le plus utilisé parmi tous les filtres existants (Semmlow et al., 2004). Les coefficients du filtre gaussien sont calculés à partir du mappage de la fonction gaussienne à 2 dimensions suivante (eq. III.9) :

$$g(x,y)=\frac{1}{2\pi\sigma^2}e^{-\frac{(x^2+y^2)}{2\sigma^2}} \quad (\text{eq.III.9})$$

Où σ est l'écart-type de la distribution gaussienne et (x,y) sont les coordonnées discrètes des pixels centrés sur le pixel à traiter.

➤ Le Filtre Homomorphe

En général, un système homomorphe est basé sur deux fonctions, il peut être décrit comme dans l'équation (eq. III.11) (Dhawan et al., 2011):

$$f(x, y) = f1(x, y) \times f2(x, y) \quad (\text{eq. III.10})$$

Où $f1(x, y)$ et $f2(x, y)$ représentent, respectivement, deux propriétés distinctes de l'image.

Le filtre homomorphe est un processus de filtrage du domaine des fréquences qui sépare les deux composants la réflectance et la luminosité. Il améliore la réflectance tout en réduisant les contributions de l'éclairage. Il normalise simultanément la luminosité d'une image et augmente le contraste. Le processus de filtrage est défini comme :

$$f(x,y) = i(x,y) \times r(x,y) \quad (\text{eq. III.11})$$

Où $i(x, y)$ et $r(x, y)$ représentent, respectivement, la luminosité et la réflectance d'un pixel spatial de coordonnées (x, y) dans l'image. La relation multiplicative des deux fonctions i et r peut être convertie en une relation additive en appliquant l'opérateur logarithmique comme suit (eq. III.12) :

$$g(x, y) = \ln (f(x, y)) = \ln (i(x, y)) + \ln (r(x, y)) \quad (\text{eq.III.12})$$

Le filtrage homomorphe est une méthode permettant d'effectuer un filtrage de fréquence dans le domaine de la transformation logarithmique. Pour obtenir de bons résultats, il doit avoir une réponse plus élevée dans la région des hautes fréquences que dans la région des basses fréquences afin que les détails, qui risquent de disparaître dans la région des hautes fréquences, puissent être accentués tout en diminuant la composante de la luminosité.

c) Techniques de filtrage dans un domaine transformé

Dans de nombreux cas, les méthodes de filtrage dans un domaine fréquentiel sont appliquées pour traiter l'image à la manière du contenu en fréquence par la manipulation des coefficients de transformation. Ce contenu en fréquences peut être facilement séparé et exprimé dans des gammes basses et hautes. Les composantes des basses fréquences représentent généralement des formes et des structures floues dans l'image, tandis que les informations des hautes fréquences concernent des détails nets, des contours et du bruit (Hk et al., 2008). Ces méthodes font référence à des techniques opérant dans des domaines transformés, tels que la transformée de Fourier (TF), la transformée en ondelettes discrètes (TOD) et la transformée en cosinus discrète (DCT).

➤ Le filtre de Wiener

Le filtre de Wiener est connu pour être optimal, au sens de l'erreur quadratique moyenne minimale (EQM), pour récupérer un signal qui est noyé dans le bruit (Wu et al., 2010 ; Chen et al., 1994). L'image observée $g(x, y)$ est supposée résultat de la somme de l'image originale $f(x, y)$ et du bruit stationnaire $n(x, y)$ (Wu et al., 2010), c'est-à-dire :

$$g(x, y) = f(x, y) + n(x, y) \quad (\text{eq. III.13})$$

Où le bruit $n(x, y)$ est supposé blanc, avec une moyenne nulle et une variance σ^2 . La fonction de transfert du filtre de Wiener est donnée comme suit (Fisher et al., 2003) :

$$H(u, v) = \frac{P_f(u, v)}{P_f(u, v) + \sigma^2} \quad (\text{eq. III.14})$$

Où $P_f(u, v)$ est le spectre de puissance du signal. Le filtre de Wiener classique présente certaines limites. Par exemple, le critère minimum de MSE permet souvent un lissage plus important que ce que l'œil humain souhaiterait. Le filtre de Wiener est souvent surpassé par les estimateurs non linéaires.

➤ La transformée ondelettes discrète (TOD)

Les ondelettes ont récemment été considérées comme un outil très puissant pour le prétraitement des images médicales car elles ont pour principe la décomposition d'une image en multi-résolution qui fournit une variété de canaux représentant les caractéristiques de l'image en ses différentes sous-bandes de fréquence et à plusieurs échelles (Wu et al., 2010). La transformation en ondelettes discrètes 2D (TOD) convertit l'image du domaine spatial au domaine (temps-fréquence).

L'image peut être décomposée en quatre sous-bandes, représentées par LL, HL, LH et HH. La sous-bande LL, également appelée composante basse fréquence, peut être décomposée en quatre autres parties pour obtenir une représentation des coefficients de niveau supérieur (Joshi et al., 2016). Trois autres sous-bandes sont appelées composants haute fréquence.

La sous-bande représentant l'éclairage de l'image correspond à la composante basse fréquence et les caractéristiques de contours correspondent aux composantes hautes fréquences. Par conséquent, la compensation d'éclairage peut être obtenue dans la sous-bande LL, et l'amélioration du contraste local peut être obtenue dans les sous-bandes HL, LH et HH (voir figure III.2). La fusion d'images basée sur la TOD offre un meilleur rapport signal/bruit et un contenu spectral de haute qualité (Joshi et al., 2016).

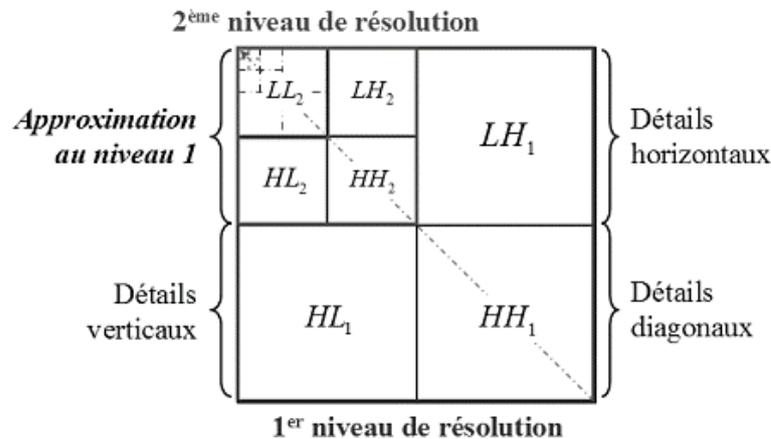


Figure III.2: Principe de décomposition de l'image en ondelettes (Donoho et al., 1994).

La transformée en ondelettes discrètes est issue de la version continue. A la différence de cette dernière, elle utilise un facteur d'échelle et une translation discrétisée. Les bases d'ondelettes sont alors définies par les fonctions :

$$\psi_{i,j}(t) = a_0^{-\frac{j}{2}} \psi(a_0^{-j} \cdot t - kb_0) \quad (\text{eq. III.15})$$

La transformée en ondelettes et sa transformée inverse sont définies par :

$$W_x(j, k) = \langle x, \psi_{j,k} \rangle = \sum_{\alpha} x(\alpha) \psi_{j,k}^* \quad (\text{eq. III.16})$$

$$x(t) = \sum_{(j,k) \in Z} W_x(j, k) \psi_{j,k}^* \quad (\text{eq. III.17})$$

Comme exprimée par l'équation (eq. III.17), la transformation retourne un ensemble discret de coefficients $W_x(j, k)$. Meyer Y. (Meyer, 1992) a mis en évidence une transformée en ondelettes dyadiques en posant $a_0=2$ et $b_0=1$ pour des fonctions particulières $\psi \in L^2(\mathbb{R})$. Comme indique l'équation (eq. III.18) :

$$\psi_{j,k}(t) = 2^{-\frac{j}{2}} \psi(2^{-j} \cdot t - k) \quad (\text{eq. III.18})$$

Où $(j, k) \in (\mathbb{Z}, \mathbb{Z})$ constitue une base orthonormée. La fonction d'ondelettes (ψ) permet de relever les hautes fréquences et elle est représentée par un filtre numérique passe haut pour définir les détails. La fonction d'échelle permet de relever les basses fréquences et elle est représentée par un filtre passe bas pour définir les parties lisses ou douces du signal (approximations). La figure III.3 montre la décomposition du signal en approximations et détails (Boncelet et al., 2005) :

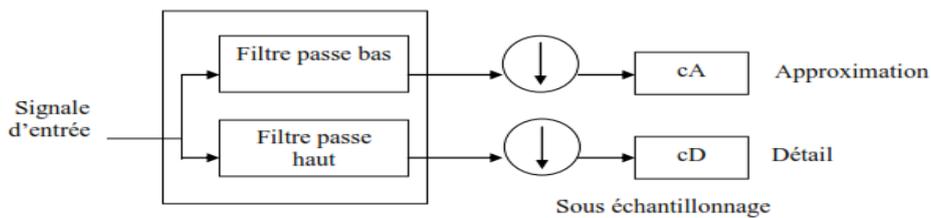


Figure III.3: La décomposition en ondelettes discrètes d'approximations et de détails.

III.2.2 LE MODULE DE SEGMENTATION

La segmentation de l'image est généralement abordée sous deux angles différents mais complémentaires, en cherchant à identifier soit les régions, soit les contours des objets de l'image (Castleman et al., 1996 ; Gonzales et al., 1992). Une région est un ensemble connecté de pixels. Dans l'approche par région, nous considérons chaque pixel de l'image et l'affectons à une région ou un objet particulier. Dans l'approche basée sur les contours, soit nous essayons de localiser directement les contours qui existent entre les régions, soit nous cherchons à identifier les pixels des contours, puis à les relier ensemble pour établir les limites requises. Les segmentations résultantes des deux approches peuvent ne pas être exactement les mêmes, mais les deux approches sont utiles pour comprendre et résoudre les problèmes de segmentation d'image, et leur utilisation combinée peut conduire à une amélioration des performances (Castleman et al., 1996 ; Gonzales et al., 1992 ; Jain et al., 1989). Les applications réelles en imagerie microscopique numérique posent souvent des problèmes de segmentation très difficiles. Une combinaison des deux techniques de base est souvent adaptée pour produire des résultats acceptables.

Dans le contexte du CASA que nous proposons, la technique de segmentation adoptée et qui nous a fourni les meilleurs résultats consiste en une hybridation des méthodes à base de contours et

à base de régions. L'organigramme de l'approche proposée est présenté dans la figure III.4. Les différentes phases de cet organigramme sont développées dans les sections ci-dessous.

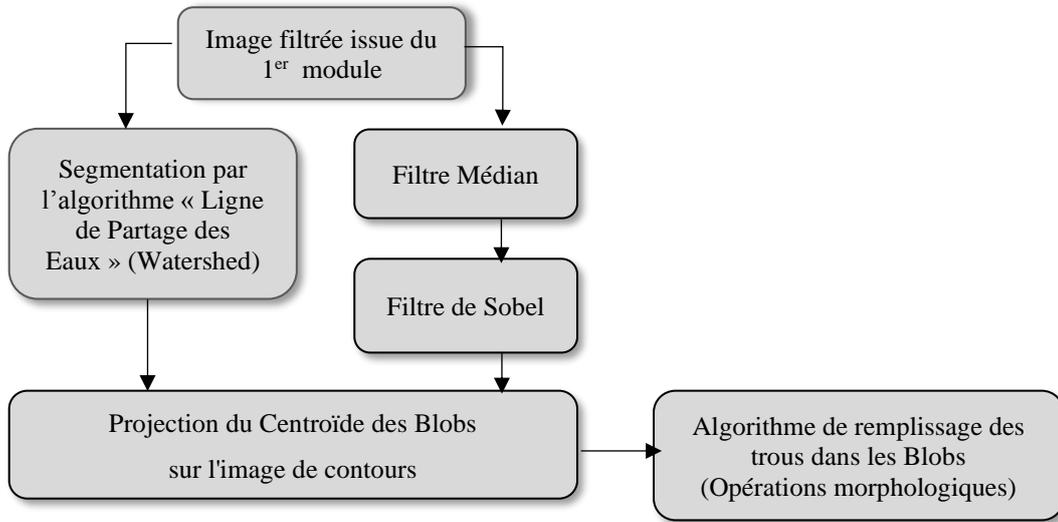


Figure III.4: Organigramme de segmentation du CASA proposé

III.2.2.1 La segmentation en régions basée sur la ligne de partage des eaux

Une des techniques répandues pour le traitement morphologique en segmentation d'images est l'algorithme de lignes de partage des eaux (Watershed). Pour comprendre son principe, la figure III.5 montre une illustration en 1-D du fonctionnement de cette approche. Pour cet exemple, nous supposons que les objets sont de faible niveau de gris, sur un fond de niveau de gris élevé. Cette figure montre les niveaux de gris le long d'une ligne de balayage qui coupe deux objets proches l'un de l'autre. L'image est initialement seuillée (binarisée) à l'aide d'un seuil de faible niveau de gris celui qui segmente l'image en un nombre approprié d'objets. Ensuite, le seuil est augmenté progressivement (avec un pas unitaire de niveau de gris à la fois) : il en découle que les limites des objets s'élargissent à mesure que le seuil augmente. Cependant, lorsqu'ils se touchent, ils ne sont pas autorisés à fusionner. Ainsi, ces points de premier contact deviennent les frontières finales entre les objets adjacents.

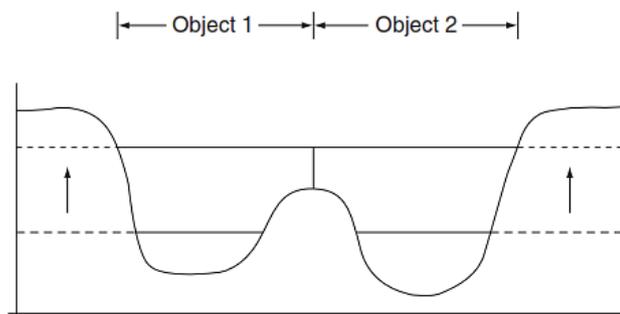


Figure III.5: Illustration d'algorithme ligne de partage des eaux (Castleman et al., 1996).

Le processus se termine avant que le seuil n'atteigne le niveau de gris de l'arrière-plan. Plutôt que seuiller simplement l'image au niveau de gris optimal, l'approche du partage des eaux commence par un seuil suffisamment bas pour isoler correctement les objets individuels. Ensuite, le seuil est progressivement augmenté au niveau optimal, mais la fusion d'objets n'est pas autorisée.

- Si le seuil initial est trop bas, les objets seront sur-segmentés et les objets à faible contraste seront d'abord manqués puis fusionnés avec les objets voisins à mesure que le seuil augmente.
- Si le seuil initial est trop élevé, les objets seront fusionnés dès le départ. La valeur du seuil final détermine dans quelle mesure les limites finales correspondent aux objets.

Les méthodes de sélection de seuil décrites dans littérature peuvent être utiles pour définir ces deux valeurs. La segmentation finale sera correcte si et seulement si la segmentation au seuil initial isole correctement les objets individuels. Les niveaux de gris de seuil initial et final doivent être bien discuté et choisis.

Cela peut résoudre le problème posé par les objets qui se touchent ou sont trop proches les uns des autres pour un seuillage global. Ce dernier cas est très fréquent dans les images microscopiques du sperme ce qui renforce notre choix pour cette technique de segmentation.

Dans le cas des images microscopiques, pour illustrer comment cette méthode arrive à segmenter des objets même dans le cas de faible contraste, nous montrons dans la figure III.6 la segmentation d'une image microscopique du domaine médical d'urologie, présentée dans une étude faite par Wu et al. (Wu et al., 2010).

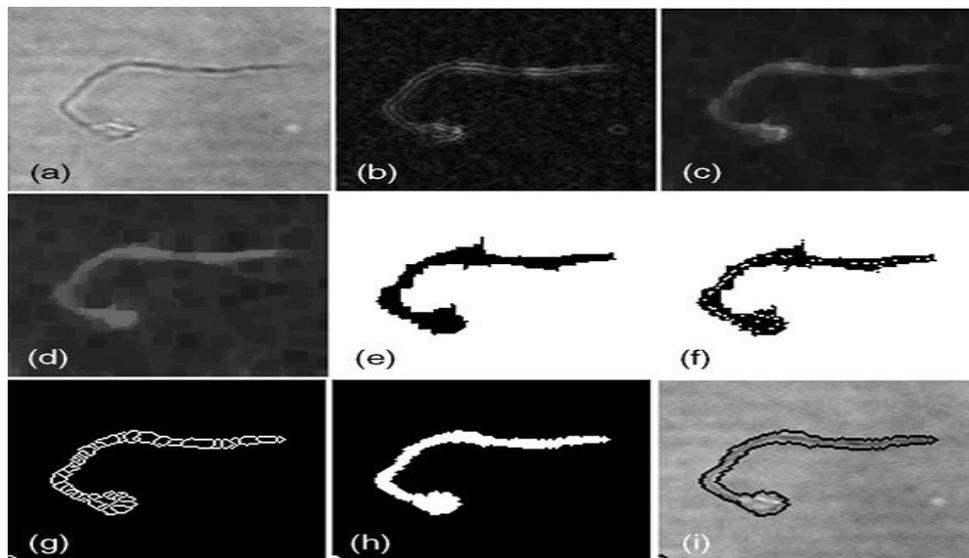


Figure III.6 : Segmentation d'un échantillon d'urologie (Wu et al., 2010).

- (a) Image brute (b) Image dégradée (c) Fermeture morphologique (d) Ouverture morphologique (e) Seuillage (pré-segmentation). (f) Marqueurs donnés par les minimas régionaux de l'image d'entrée, masqués par la pré-segmentation (g) Ligne de partage des eaux à partir des marqueurs de l'image d'entrée (h) Fermeture morphologique (i) Contour (dégradé) superposé à l'image d'entrée.

➤ Algorithme original de « Ligne de Partage des Eaux » avec marqueurs

Notons 'f' l'image initiale en niveaux de gris définie dans l'intervalle $[h_{\min}, h_{\max}]$ que l'on va représenter comme un relief topographique, et M l'ensemble des marqueurs fourni au titre de l'initialisation spatiale. Ces marqueurs vont permettre de localiser les minimas que l'on souhaite imposer à la fonction f, et on définit alors le nouveau relief g comme :

$$g(p) = \begin{cases} h_{\min-1} & \text{si } p \in M \\ f(p) & \text{sinon} \end{cases} \quad (\text{eq. III.19})$$

Où p représente les coordonnées d'un pixel, et $h_{\min-1}$ une nouvelle valeur spécifique aux marqueurs initiaux. La segmentation de l'image correspond à l'ensemble $X_{h_{\max}}$ des bassins de rétention de la fonction g, calculé d'après le schéma de récursion suivant :

$$X_{h_{\min-1}} = T_{h_{\min-1}}(g) \quad (\text{eq. III.20})$$

$$X_{h+1} = IZ_{T_{h+1}(g)}(X_h), \quad h_{\min} \leq h < h_{\max} \quad (\text{eq. III. 21})$$

Où T_h est la fonction seuil de niveau h (c'est-à-dire : $T_h(f) = \{p \mid f(p) \geq h\}$), et $IZ_A(B)$ est l'union des zones d'influences géodésique des composantes connexes de B avec $\subseteq A$. Nous faisons donc appel également aux définitions suivantes :

$$IZ_A(B) = \bigcup_{j=1}^1 iZA(B_j) \quad (\text{eq. III. 22})$$

$$iZA(B_j) = \{p \in A \mid \forall k \in [1, l] \setminus \{j\}: d_A(p, B_j) < d_A(p, B_k)\} \quad (\text{eq. III. 23})$$

$$d_A(a, B) = \min_{b \in B} d_a(a, b) \quad (\text{eq. III. 24})$$

Où $d_A(a,b)$ représente la distance géodésique entre a et b dans A. Une définition complète est donnée dans le travail de Vincent (Vincent et al., 1991).

III.2.2.2 La segmentation en contours

Lors de l'implémentation de l'algorithme de la segmentation en régions de l'étape précédente, nous avons conclu qu'elle était suffisante pour détecter seulement les têtes des spermatozoïdes ainsi que les débris dans l'image. Pour détecter la queue des spermatozoïdes, il était nécessaire de segmenter son contour à l'aide d'une technique robuste. Pour cela nous avons testés les détecteurs de contours Canny et Sobel en l'évaluant visuellement pour choisir le meilleur. Dans la suite de cette section, nous allons exposer le détecteur de contours adéquat pour notre cas qui est le détecteur Sobel ainsi que le filtre Médian qui a été utilisé en amont pour débruiter l'image pour avoir une bonne localisation des contours.

a) Le filtre de Sobel

Le filtre de Sobel est un bon estimateur du gradient de l'image. Il se caractérise par la paire de filtres directionnels de taille (3×3) suivant (Davis et al., 1975):

$$S_x = \begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -2 & 0 & 2 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad \text{et} \quad S_y = \begin{bmatrix} -1 & -2 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & 1 \end{bmatrix} \quad (\text{eq. III. 25})$$

Après calcul des deux images de gradients directionnels, on calcule l'image du module du gradient. Les contours peuvent être obtenus par seuillage simple d'Otsu (Wu et al., 2010) ou un seuillage optimal (Filtrage de Canny).

b) Le filtre médian

Malgré l'utilisation de plusieurs filtres de lissage en prétraitement nous avons remarqué lors de la phase de segmentation la présence de beaucoup de blobs de petites tailles indésirables, nous avons alors penser à utiliser, en amont un filtrage médian qui est un opérateur non linéaire couramment utilisé pour estomper le bruit dans l'image. Son principe est de remplacer le pixel courant par la médiane de la série composée par le voisinage de ce pixel (Dhawan et al., 2011).

III.2.2.3 Remplissage des trous (Hole Filling)

Appelée aussi fermeture morphologique, son rôle est la suppression des trous qui apparaissent à l'intérieur des objets après le seuillage d'une image. Pratiquement, il consiste en une succession de deux opérations morphologiques qui sont une dilatation (OR-logique) suivie d'une érosion (AND-logique). L'élément structurant doit être de taille supérieure aux trous.

La figure III.7 illustre un exemple pratique de la procédure de remplissage des trous.

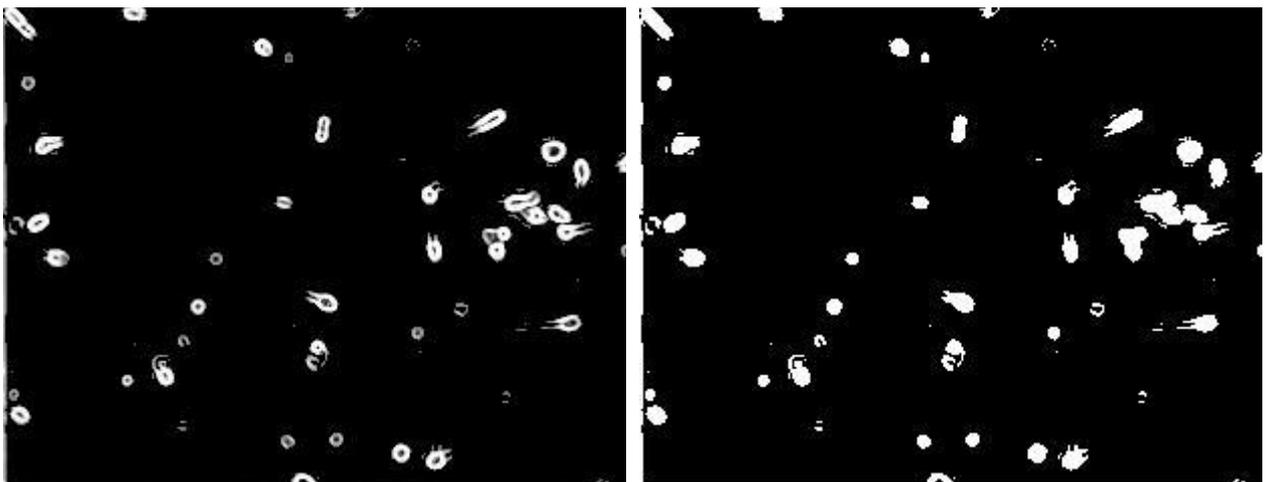


Figure III.7 : Illustration de l'effet d'une opération de remplissage de trous (Mathworks, 2019)
A gauche : l'image binaire originale ; A droite : le résultat de l'application d'une fermeture morphologique en utilisant un élément structurant adéquat.

III.2.3 LE MODULE DE RECONNAISSANCE DES SPERMATOZOÏDES ET EVALUATION DE LA CONCENTRATION

III.2.3.1 Extraction caractéristiques discriminantes

A la sortie du module de segmentation, nous récupérons clairement les objets sur lesquels les caractéristiques peuvent être calculées. Les objets extraits sont étiquetés et peuvent être traités soit comme des objets binaires, soit comme des objets en niveau de gris ou même en couleurs. Les objets binaires appelés objets d'intérêt sont généralement représentés de telle sorte que les pixels appartenant à l'objet ont la valeur «1» et les pixels restants, appelés arrière-plan sont des «0». L'objectif commun des techniques d'extraction et de représentation des caractéristiques est de convertir les objets segmentés en représentations numériques (vecteurs) qui décrivent le mieux leurs principales caractéristiques.

Le type et la complexité de la représentation résultante dépendent de nombreux facteurs, tels que le type d'image (binaire, en niveaux de gris ou couleur) et du contexte de l'application finale. L'extraction de caractéristiques est le processus par lequel certaines caractéristiques d'intérêt dans une image sont détectées et représentées pour un traitement ultérieur. C'est une étape critique dans la plupart des solutions de traitement d'images et de vision par ordinateur car elle marque la transition de la représentation de données picturale (pixels) vers une représentation quantitative (vecteur de données). La représentation résultante peut ensuite être utilisée comme entrée d'un module de reconnaissance et de classification de formes dans le but final est de classer ou reconnaître le contenu sémantique de l'image ou de ses objets.

Les caractéristiques mesurables à adopter en vue d'une bonne classification doivent garantir les contraintes suivantes (Marques, 2011) :

- Une invariance aux transformations géométriques (translation, rotation, changement d'échelle) ;
- Une robustesse à la mauvaise résolution spatiale, à l'éclairage non uniforme, aux distorsions géométriques et aux bruits ;
- Une solution au problème d'occultation (objet incomplet ou partiellement caché) ;
- Une indépendance entre les caractéristiques entre-elles (avoir un caractère discriminant) ;
- Une complexité et un coût calculatoire acceptable.

Une grande quantité de ces caractéristiques trouvées dans la littérature obéissent aux contraintes citées ci-dessus. Elles peuvent être classées en ces quatre catégories (Marques, 2011) :

- a) Descripteurs de formes ;
- b) Descripteurs de contours ;
- c) Descripteurs statistiques basés sur l'histogramme;
- d) Descripteurs de texture.

Après une analyse visuelle de l'image binaire segmentée obtenue à la sortie du module de segmentation, nous avons remarqué que les objets avaient des surfaces et des formes différentes. Parmi ces régions, les vrais spermatozoïdes se différencient des autres blobs (bruits, débris et impuretés) par la présence d'une forme parfaitement elliptique matérialisant la tête ovale du spermatozoïde ainsi qu'une valeur de la surface totale presque stable. Ce résultat d'analyse nous a donc facilité le choix des caractéristiques à adopter pour former notre vecteur de caractéristiques.

Par conséquent, les caractéristiques pertinentes choisies pour notre système sont : la surface de l'objet segmenté, la longueur du grand axe et du petit axe de l'ellipse englobante ainsi que le centroïde de l'objet. Ce dernier sera utilisé ultérieurement pour la procédure de tracking (dans la phase du suivi).

Voici donc la liste des caractéristiques discriminantes (voir figure III.8):

- Le grand axe (ou Major axis) « a » de l'ellipse englobante (en pixels).
- Le petit axe (ou minor axis) « b » de l'ellipse englobante (en pixels).
- La surface « S » de l'objet segmenté (en pixels).
- Les coordonnées du centroïde (X_c et Y_c) dans le repère global de l'image.

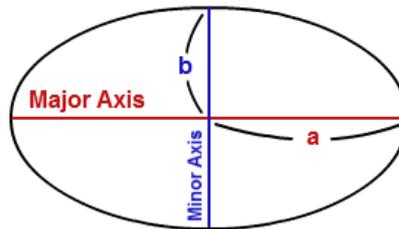


Figure III.8 : Les deux caractéristiques géométriques de l'ellipse englobante

III.2.3.2 Le choix du classifieur

Le but de la reconnaissance de formes (RdF) est d'attribuer une classe (classification) à chaque objet dans une image connaissant sa représentation numérique de ses propriétés (vecteur de caractéristiques).

Les techniques de classification sont classées de deux manières :

- La première manière de classification est :
 - Techniques de classification statistiques (vecteurs numériques)
 - Techniques classification structurelles (grammaires ou dictionnaire d'objets).
- La deuxième manière de classification est :
 - Techniques de classification supervisées
 - Techniques de classification non supervisées.

La conception d'un classifieur comprend généralement les étapes suivantes :

1. Définir le nombre de classes impliquées ;
2. Extraire les caractéristiques appropriées pour décrire les objets ;
3. Sélectionnez une méthode de classification. À ce stade, nous pouvons bénéficier de la vaste gamme d'outils et des techniques dans le domaine de fouille de données (Data Mining) et de l'apprentissage automatique (Machine Learning) et choisir celui qui convient le mieux à nos besoins, en fonction de leur complexité, de leur coût de calcul, de leurs capacités de formation et d'autres propriétés.
4. Sélectionnez un grand ensemble d'images représentatives (base de données). Elles serviront à enseigner au classifieur les classes qu'il devrait être en mesure de reconnaître (apprentissage), ainsi que pour ajuster certains des paramètres du classifieur.
5. Testez le classifieur : pour cela, nous mesurons les taux de réussite et d'erreur et calculons les valeurs de mérite pertinentes (la table de confusion, la précision, le rappel, ...).
6. Affinez et améliorez la solution : après avoir analysé les résultats calculés à l'étape 5, nous devons peut-être revenir à une étape antérieure, traiter quelques changements (par exemple, sélectionner différentes caractéristiques, modifier les paramètres d'un classifieur, collecter des images supplémentaires, etc.) et tester la solution modifiée.

Le système CASA que nous proposons a pour objectif principal la reconnaissance des spermatozoïdes. Pour arriver à ce but, nous devons présenter à notre classifieur un ensemble d'images comportant une grande variété d'objets différents (des spermatozoïdes et des non-spermatozoïdes) afin de lui permettre de bien façonner sa fonction de décision lors de la phase d'apprentissage.

Lors d'une recherche approfondie sur Internet. Il s'est avéré qu'aucune base de données d'images microscopiques de sperme n'était disponible en libre accès. Ce n'est qu'après maintes correspondances avec des chercheurs dans le domaine que nous avons pu acquérir deux bases de données mettant en jeu un total de 5978 images de spermatozoïdes et qui seront présentées avec plus de détails dans le chapitre suivant (Ghasemian et al., 2015 ; Imani et al.2014). Cette faible quantité d'images collectées ne nous permet pas de recourir aux techniques d'apprentissage profond (Deep-Learning). Nous avons alors choisi une technique qui a montré ses preuves dans le domaine de l'imagerie médicale qui est la méthode SVM (Support Vector Machines).

a) Description de la technique de classification SVM

Egalement appelée « Séparateur à Vaste Marge », elle a été introduite par Vapnik en 1995 (Vapnik et al., 1995) et demeure la méthode d'apprentissage supervisée parmi les plus efficaces pour le problème de classification. Les SVM sont formées de manière à ce que la fonction de décision classe avec précision les données des exemples. La principale raison de leurs succès c'est leur grande capacité de généralisation.

Avant d'être généralisée à plusieurs classes, elle a pour but de définir un hyperplan de séparation entre deux classes qui minimise l'erreur de classification sur un ensemble d'apprentissage (Saad Narimen, 2018). L'idée principale est de projeter des données appartenant à des classes différentes, non linéairement séparables, avec l'espace d'entrée, dans un plus grand espace appelé espace de caractéristiques, de telle sorte que les données deviennent linéairement séparables. Dans cet espace, l'hyperplan optimal construit par la technique est utilisé pour calculer la fonction de classement séparant les classes.

Dans le cas de deux classes, l'hyperplan donne une représentation des couples de données multidimensionnelles suivantes :

$$\begin{cases} (x_1, y_1) \\ (x_2, y_2) \\ \dots \\ (x_n, y_n) \end{cases} \quad \text{où: } \begin{array}{l} x_i \text{ est le vecteur de caractéristiques relatif à l'objet 'i'} \\ y_i \text{ la classe de l'objet } \in \{-1, +1\} \end{array} \quad (\text{eq. III.26})$$

Cette méthode d'apprentissage supervisée peut engendrer une séparatrice plus ou moins complexe selon la nature du noyau choisi. Le noyau le plus simple est le noyau linéaire qui consiste à chercher un séparateur linéaire dans l'espace à N dimensions des scores. Le but des fonctions noyau est de transformer l'espace initial (des scores à N dimensions) en un espace de dimension plus grande dans lequel les données pourraient être linéairement séparables. La séparatrice est donc toujours linéaire dans l'espace transformé par la fonction noyau, mais ne l'est plus dans l'espace des scores. Le classifieur SVM a pour objectif de trouver une séparatrice qui minimise l'erreur de classification sur l'ensemble d'apprentissage mais qui sera également performante en général sur des données non utilisées en apprentissage. Pour cela, le concept utilisé est celui de marge (d'où le nom de séparateurs à vaste marge).

La marge est la distance quadratique moyenne entre la séparatrice et les éléments d'apprentissage les plus proches de celle-ci appelés vecteurs de support (voir figure III.9). Ces éléments sont appelés vecteurs de support car ce sont uniquement sur ces éléments de l'ensemble d'apprentissage que la séparatrice est optimisée (Saad Narimen, 2018).

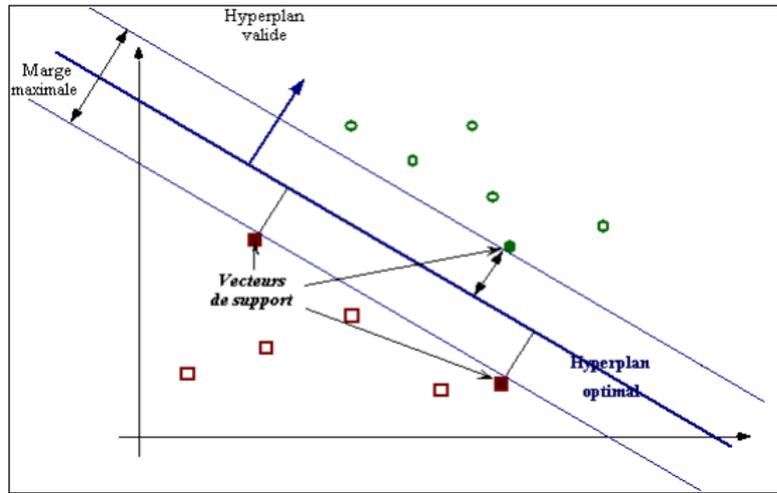


Figure III.9 : Séparation linéaire dans un espace à deux dimensions (Saad Narimen, 2018).

➤ Le classifieur SVM à deux classes

Le but de tout classifieur est de classer un vecteur x_i dans l'une des classes possibles. Dans notre problème, il y a deux classes : « client » matérialisé par le spermatozoïde dont l'étiquette sera notée $y = +1$ ou « imposteur » matérialisé par les débris, impuretés et bruits, dont l'étiquette sera notée $y = -1$. Le classifieur a donc pour but de déterminer la fonction 'f' telle que :

$$y = f(x) \quad (\text{eq. III.27})$$

La technique SVM a pour but de trouver la meilleure séparatrice linéaire (en termes de marge maximale, c'est à dire la meilleure généralisation) dans l'espace transformé par la fonction de noyau K. Cela consiste à déterminer le vecteur w et la constante b tels que la séparatrice ait pour équation:

$$w \cdot K(x) + b = 0 \quad (\text{eq. III.28})$$

Il est cependant clair que la distance entre un point de l'espace x_i et l'hyperplan d'équation donnée ci-dessus est égale à :

$$h(x_i) = \frac{w \cdot K(x_i) + b}{\|w\|} \quad (\text{eq. III.29})$$

Parmi les modèles traités par les SVM, on trouve les cas linéairement séparables et les cas non linéairement séparables (Ouessi et al., 2012). Les applications ayant un hyperespace à séparation linéaire sont les plus simples car ils permettent de trouver facilement le séparateur linéaire (voir figure III.10).

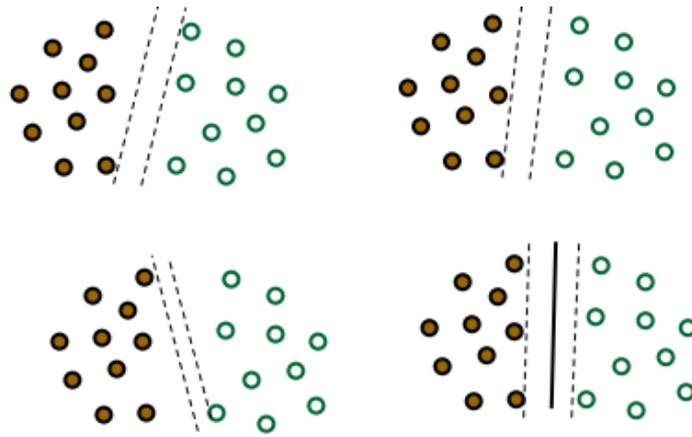


Figure III.10. Exemple d'hyperplans à séparation linéaire (Ouessi et al., 2012).

Dans la plupart des problèmes réels, il n'y a pas de séparation linéaire possible entre les données : le classificateur de marge maximale ne peut pas être utilisé car il fonctionne seulement si les classes de données d'apprentissage sont linéairement séparables. Le cas non linéairement séparable se présente lorsqu'il n'existe pas d'hyperplan d'équation linéaire séparant les données sans erreurs (voir figure III.11).

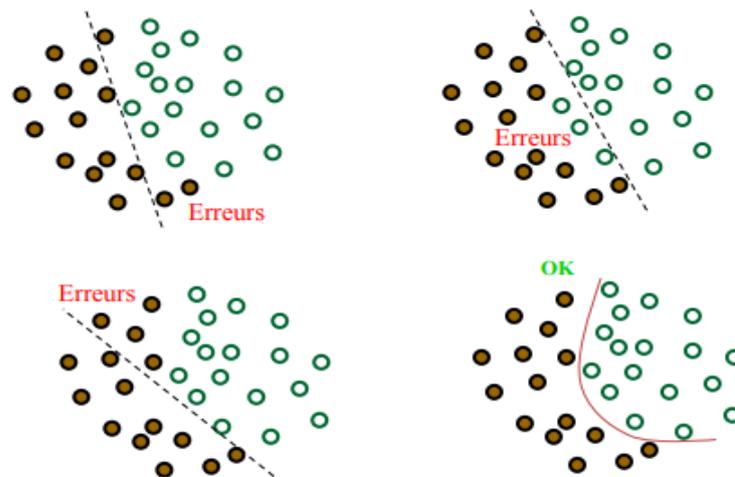


Figure III.11. Cas non linéairement séparables (Ouessi et al., 2012).

Pour surmonter les inconvénients des cas non linéairement séparables, l'idée des SVM est de changer l'espace des données. La transformation non linéaire des données peut permettre une séparation linéaire des exemples dans un nouvel espace. On va donc avoir un changement de dimension. Cette nouvelle dimension est appelée « espace de re-description » (Belhadj et al., 2018). En effet, plus la dimension de l'espace de re-description est grande, plus la probabilité de pouvoir trouver un hyperplan séparateur entre les exemples est élevée. Ceci est illustré par la figure III.12.

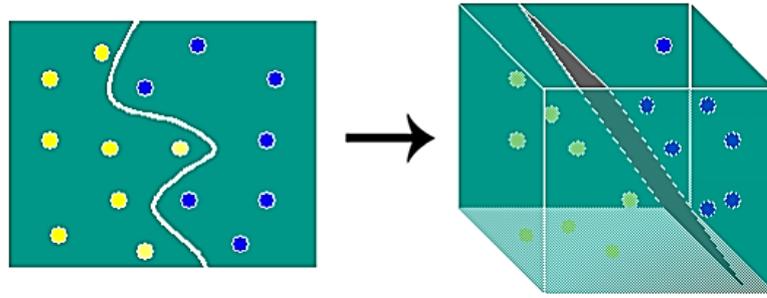


Figure III.12 : L'espace de re-description (Belhadj et al., 2018)

On a donc une transformation d'un problème de séparation non linéaire dans l'espace de représentation en un problème de séparation linéaire dans un espace de re-description de plus grande dimension. Cette transformation non linéaire est réalisée via une fonction noyau. En pratique, quelques familles de fonctions noyau paramétrables sont connues et il revient à l'utilisateur de SVM d'effectuer des tests pour déterminer celle qui convient le mieux pour son application. On peut citer des exemples de noyaux, tels les noyaux polynomiale, gaussien, sigmoïde et Laplacien (Loosli, 2005).

III.2.3.3 Evaluation de la concentration des spermatozoïdes

La concentration des spermatozoïdes est généralement calculée en comptant le nombre de spermatozoïdes identifiés dans une grille de comptage (généralement 10×10) intégrée dans une lentille oculaire du microscope et en appliquant un facteur d'échelle. Le facteur d'échelle relie le nombre moyen de spermatozoïdes par boîte à une concentration exprimée en millions de spermatozoïdes par mL. Pour calculer le facteur d'échelle, souvent appelé F-facteur du microscope, la taille de chaque boîte de la grille est d'abord déterminée en utilisant la lentille oculaire de la grille de comptage pour observer un micromètre de scène. La formule donnant le F- facteur, désigné ici par F^* , est normalisée par l'OMS. Ce facteur est calculé comme suit (OMS, 2010) :

$$F^* = \frac{1 \times 10^6}{\text{volume d'une boîte } (\mu\text{m}^3)} \quad (\text{eq. III.30})$$

La formule donnant la concentration en spermatozoïdes est alors donnée par :

$$C = N_{\text{sperme}} \times F^* \quad (\text{eq. III.31})$$

Où N_{sperme} est le nombre moyen de spermatozoïdes par boîte qui est donné par :

$$N_{\text{sperme}} = \frac{\# \text{ spermatozoides}}{\# \text{ boites}} \quad (\text{eq. III.32})$$

III.2.5 LE MODULE D'EVALUATION DE LA MOTILITE ET DU SUIVI DE TRAJECTOIRES

La méthode de détection de mouvement la plus simple consiste à faire la soustraction entre deux images successives (Jain et al., 1979). Les pixels dont l'intensité résultante est proche de zéro sont assimilés comme étant les pixels du fond. De la même manière, il est possible de soustraire à l'image courante une image de référence appelée modèle du fond (où aucun objet en mouvement n'est présent). Ces approches basiques considèrent la caméra immobile durant l'acquisition de la séquence et c'est exactement le cas pour les captures microscopiques du sperme.

Le choix du seuil de décision (proche de zéro) n'est pas évident et doit tenir compte du bruit et des changements de la luminosité de la scène filmée. De plus, ce seuil n'a aucune raison d'être global sur toute l'image. En effet, des objets et des mouvements différents entraînent des variations d'intensité. De nombreuses méthodes, utilisant deux ou trois images successives, permettant de décider si un pixel a bougé. Elles s'appuient généralement sur un test d'hypothèse (Radke et al., 2005). Pour des scènes dynamiques, on peut aller jusqu'à mettre à jour continuellement les modèles du fond en utilisant une mixture de gaussiennes.

III.2.5.1 La détection du mouvement d'un spermatozoïde

Dans le contexte de notre CASA, les techniques de détection par soustraction du modèle de fond à l'image en cours sont impossibles à implémenter du fait qu'elles nécessitent de longues séquences vidéos du sperme pour aboutir à un modèle robuste du fond. La technique de détection de mouvement par soustraction d'images successives a été appliquée dans (Gang et al., 2013). Elle consiste en une différenciation au niveau des pixels entre deux ou trois images consécutives pour détecter des régions correspondant à des objets en mouvement tels que les têtes des spermatozoïdes dans notre cas. La fonction de seuil détermine le changement et dépend de la vitesse de déplacement du spermatozoïde. Il est difficile de maintenir la qualité de la segmentation si la vitesse de l'objet change de façon significative. La différence entre trames successives s'adapte très bien aux environnements dynamiques, mais très souvent, des trous se creusent à l'intérieur des objets en mouvement ce qui nécessite l'ajout d'une phase de remplissage des trous par des opérateurs morphologiques.

Dans le cas de soustraction entre 2 frames successifs $f_k(x, y)$ et $f_{k-1}(x, y)$, la valeur de l'image binaire du mouvement $D(x, y)$ est donnée par la formule suivante (eq. III.33) :

$$D(x, y) = \begin{cases} 1 & \text{si } |f_k(x, y) - f_{k-1}(x, y)| \geq T \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (\text{eq. III.33})$$

Où T est un seuil à déterminer expérimentalement.

L'image de mouvement $D(x, y)$ obtenue selon la formule (eq. III.33) est très bruitée et contient beaucoup de trous à l'intérieur des objets en mouvements. Une version améliorée, mettant en jeu la détection de mouvement ainsi qu'un moyennage est obtenue par la technique des différences inter-trames entre trois images binaires successives " I_{k-1} , I_k et I_{k+1} " pour l'ensemble de la séquence vidéo (Gang, L. et al., 2013). Le principe de cette méthode de détection du mouvement est le suivant (figure III.13) :

- Commencer par calculez les deux images différentielles entre les 3 trames successives d_k et d_{k+1} à l'aide des équations (eq.III.34) et (eq.III.35) :

$$d_k = I_k - I_{k-1} \quad (\text{eq. III.34})$$

$$d_{k+1} = I_{k+1} - I_k \quad (\text{eq. III.35})$$

- Puis déduire la nouvelle image de mouvement M_{tk} en calculant l'opérateur logique «AND» entre les deux images différentielles binaires précédentes d_k et d_{k+1} (voir figure III.13) comme suit (eq. III.36):

$$M_{t_k} = (d_k) \text{ AND } (d_{k+1}) \quad (\text{eq. III.36})$$

L'image binaire du mouvement M_{tk} passe ensuite par une procédure d'étiquetage des objets en mouvement. Le taux de motilité est déduit en comptant la totalité des objets étiquetés dans l'image.

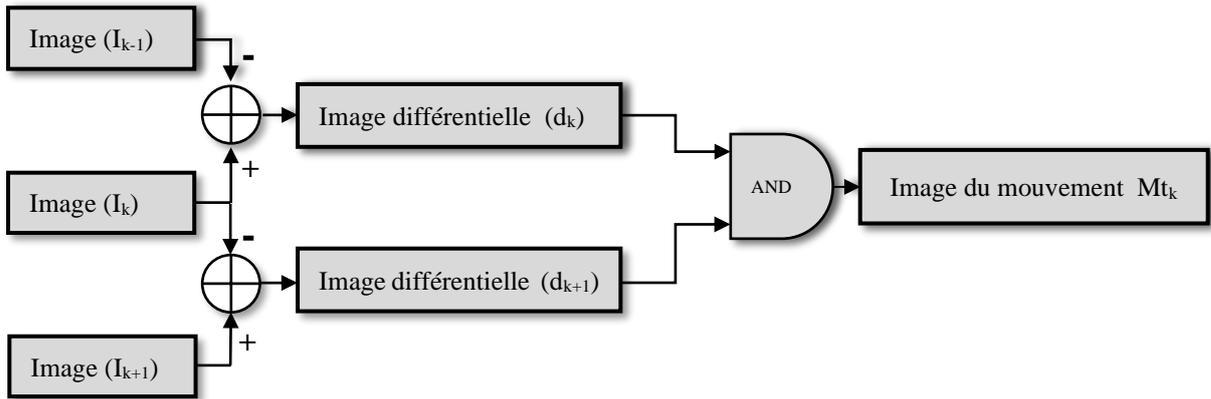


Figure III.13. Détection de spermatozoïdes mobiles à l'aide de la technique de différenciation à trois images.

III.2.5.2 Le tracking (ou suivi) des spermatozoïdes mobiles :

Le suivi d'objets dans une séquence d'images est un problème classique et largement étudié dans le domaine de l'analyse du mouvement pour lequel des nombreux algorithmes de suivi ont été proposés ces dernières années. Dans cette section, nous allons présenter l'algorithme que nous avons choisi d'implémenter pour notre CASA qui est le filtre de Kalman.

Les trois idées qui motivent l'utilisation d'un filtre de Kalman sur les paramètres du mouvement sont :

- Accumuler les mesures des paramètres de mouvement d'une région au cours du temps pour affiner les estimations.
- Obtenir une bonne prédiction du mouvement nécessaire pour prédire la segmentation avant ajustement et pour initialiser l'estimation de mouvement (voir figure III.14).
- Eviter les occlusions des spermatozoïdes pendant leurs mouvements.

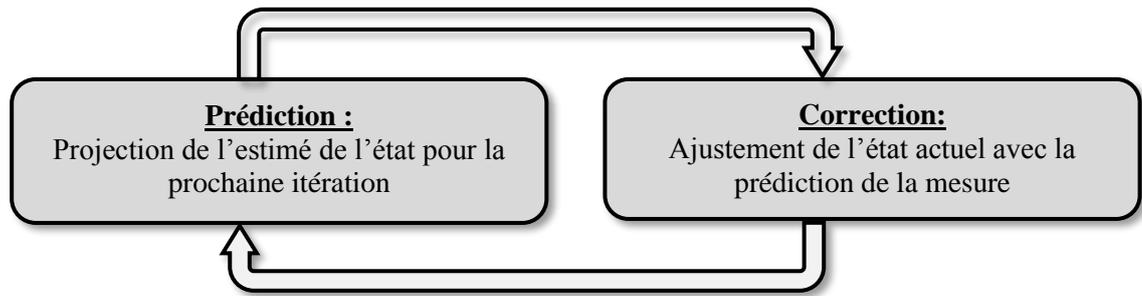


Figure III.14. Le cycle du filtre de Kalman.

Principe du filtre de Kalman

Le filtre de Kalman a été utilisé avec succès dans les applications de tracking d'objets dans les séquences vidéo. Il a deux caractéristiques distinctives. La première est que son modèle mathématique est décrit en termes de concepts d'espace d'état. L'autre est que sa solution est calculée de manière récursive. Habituellement, le filtre de Kalman est décrit par l'état du système modèle et modèle de mesure. Le modèle d'espace d'état est décrit comme :

Modèle d'état du système :

$$s(t) = \ddot{O}(t-1) \cdot s(t-1) + w(t) \quad (\text{eq. III. 37})$$

Modèle de mesure :

$$z(t) = H(t)s(t) + v(t) \quad (\text{eq. III. 38})$$

Où : $\ddot{O}(t-1)$ et $H(t)$ sont respectivement la matrice de transition d'état et la matrice de mesure.

Et $w(t)$ et $v(t)$ sont des bruits blancs gaussiens avec une moyenne nulle et :

$$\begin{aligned} E\{w(k)w^T(l)\} &= Q \cdot \delta_{kl} \\ E\{v(k)v^T(l)\} &= R \cdot \delta_{kl} \end{aligned} \quad (\text{eq. III.39})$$

Où : δ_{kl} désigne la fonction delta de Kronecker ; Q et R sont les matrices de covariance de $w(t)$ et $v(t)$, respectivement. Le vecteur d'état $s(t)$ de l'heure actuelle t est prédit à partir de l'estimation précédente et de la nouvelle mesure $z(t)$ (Welch et al., 1995)

L'exécution du filtre de Kalman se déroule en deux étapes : l'étape de prédiction et l'étape de correction. L'étape de prédiction est responsable de la projection de l'état actuel pour obtenir une estimation à priori de l'état $s^-(t)$. L'étape de correction concerne le retour d'information, c'est-à-dire qu'elle intègre une mesure réelle dans l'à priori pour obtenir une meilleure estimation à posteriori $s^+(t)$. L'équation de $s^+(t)$ donnée comme suit (Weng et al., 2006) :

$$s^+(t) = s^-(t) + K(t) \cdot (z(t) - H(t) \cdot s^-(t)) \quad (\text{eq. III. 40})$$

Où $K(t)$ est la pondération et est décrit par :

$$K(t) = P^-(t) \cdot H(t)^T \cdot (H(t) \cdot P^-(t) \cdot H(t)^T + R(t))^{-1} = \frac{P(t)^- \cdot H(t)^T}{H(t) \cdot P^-(t) \cdot H(t)^T + R(t)} \quad (\text{eq. III. 41})$$

Dans l'équation (eq.III.41), le $P^-(t)$ est la covariance de l'erreur d'estimation à priori. Elle est définie comme :

$$P^-(t) = E[e^-(t).e^-(t)^T] \quad (\text{eq. III.42})$$

Où $e^-(t) = s(t) - s^-(t)$ est l'erreur d'estimation à priori. En outre, la covariance de l'erreur d'estimation à posteriori $P^+(t)$ est définie comme :

$$P^+(t) = E[e^+(t).e^+(t)^T] \quad (\text{eq. III.43})$$

Où $e^+(t) = s(t) - s^+(t)$ est l'erreur d'estimation à posteriori.

Les étapes de prédiction et de correction sont exécutées de manière récursive comme suit :

- Étape de prédiction :

$$s^-(t) = \ddot{O}(t-1).s^+(t-1) \quad (\text{eq. III.44})$$

$$P^-(t) = \ddot{O}(t-1).P^+(t-1).\ddot{O}(t-1)^T + Q(t-l) \quad (\text{eq. III.45})$$

- Étape de correction

$$K(t) = P^-(t).H(t)^T.(H(t).P^-(t).H(t)^T + R(t))^{-1} \quad (\text{eq. III.46})$$

$$s^+(t) = s^-(t).K(t).(z(t) - H(t).s^-(t)) \quad (\text{eq. III.47})$$

$$P^+(t) = (I - K(t).H(t)).P^-(t) \quad (\text{eq. III.48})$$

Le cycle de prédiction-corrrection est répété récursivement (Figure III.14). Si l'on considère l'équation ci-dessus, l'erreur de mesure $R(t)$ et les gains de Kalman $K(t)$ sont en rapport inverse. Plus $R(t)$ est faible, plus le gain $K(t)$ pèse lourdement sur le résidu. Dans ce cas, la mesure est de plus en plus fiable, tandis que le résultat prévu est de moins en moins fiable. D'autre part, comme l'erreur d'estimation à priori $P(t)$ s'approche de zéro, le gain $K(t)$ pondère le résidu moins fortement. On fait de moins en moins confiance à la mesure réelle, alors que l'on fait de plus en plus confiance au résultat prévu. Par conséquent, le système obtiendra un résultat presque optimal, si nous pouvons décider à qui nous ferons confiance.

III.2.5.3 Mesure des paramètres cinétiques de nage des spermatozoïdes

Dans cette section, nous définissons les différents paramètres de nage dynamique qui ont été étudiés dans des travaux précédents de CASA et d'analyse des mouvements du sperme (Mack et al., 1988 ;OMS, 2010 ;Su et al., 2012). Pour notre CASA, ces paramètres sont calculés en utilisant la séquence brute des mesures de position associées à chaque trajectoire de spermatozoïde mobile, appelée trace (voir figure III.15). Certaines traces de sperme peuvent être plus courtes ou plus longues que d'autres.

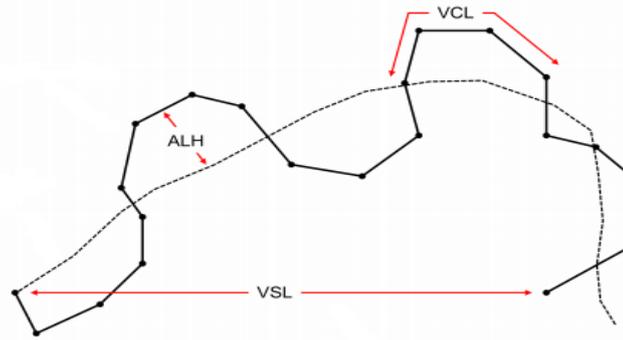


Figure III.15. Illustration des paramètres cinétiques de nage des spermatozoïdes (OMS, 2010).

Par exemple, un spermatozoïde rapide peut entrer et sortir de l'image vidéo en quelques secondes seulement. En revanche, ceux plus lents peuvent s'attarder dans l'image vidéo pendant des dizaines de secondes. Afin d'éviter que les mesures ne soient biaisées en faveur des spermatozoïdes les plus lents, nous introduisons l'idée d'une fenêtre de temps d'analyse maximale. En d'autres termes, seules les premières secondes de chaque trace, c'est-à-dire les points situés dans la fenêtre temporelle d'analyse, sont utilisées pour calculer les paramètres de motilité. Dans le cas de notre CASA, nous avons choisi une fenêtre temporelle d'analyse maximale de 5 secondes. Nous décrivons, par la suite, comment chaque paramètre est calculé dans cette fenêtre de temps d'analyse.

La vitesse curvilinéaire (VCL) est exprimée en $\mu\text{m}/\text{sec}$ et mesure la vitesse de déplacement de la tête du spermatozoïde sur un segment de piste de longueur ' T_s ' sec (généralement de durée 1 sec ((Mortimer, 2014)). La VCL est définie comme la somme des distances entre deux positions consécutives dans un segment de voie divisée par la durée totale du segment de voie T_s . La VCL pour la voie t au moment k est donnée par

$$VCL_t(k) = \frac{1}{T_s} \sum_{i=k-n_s}^k \| z_t(i+1) - z_t(i) \| \quad (\text{eq. III.49})$$

Où $\|z_t(i+1) - z_t(i)\|$ désigne la norme euclidienne et n_s est le nombre total de points dans le segment de piste T_s donné par :

$$n_s = \left\lceil \frac{T_s}{T} \right\rceil \quad (\text{eq. III.50})$$

La vitesse en ligne droite (VSL) est exprimée en $\mu\text{m}/\text{seconde}$ et correspond à la distance en ligne droite. La VSL pour la voie t au temps k , est donnée par

$$VSL_t(k) = \frac{1}{T_s} \| z_t(k) - z_t(k - n_s) \| \quad (\text{eq. III.51})$$

La linéarité (LIN) est le rapport sans dimension entre VSL et VCL qui représente la mesure de la linéarité du trajet curviligne. Les valeurs de LIN vont de 0 à 1, la valeur 1 représentant les spermatozoïdes nageant en ligne droite. La valeur diminue à mesure que la non-linéarité du modèle de nage augmente (Mack et al., 1988).

La valeur de LIN pour la trace t au temps k , est donnée par :

$$LIN_t(k) = \frac{VSL_t(k)}{VCL_t(k)} \quad (\text{eq. III.52})$$

L'amplitude du déplacement latéral de la tête (ALH) est définie comme étant le double de l'amplitude du déplacement latéral de la tête d'un spermatozoïde par rapport à sa trajectoire moyenne (OMS, 2010). La trajectoire moyenne du sperme est calculée en utilisant une moyenne mobile de n_a -point $z_s^t(k)$ sur le segment de trajectoire de durée T_s où $n_a = 5$. Alors l'ALH pour la trajectoire cible t au temps k est alors donnée par :

$$ALH_t(k) = \frac{2}{T_s} \sum_{i=k-n_s}^k \| z_t(i) - z_s^t(i) \| \quad (\text{eq. III.53})$$

III.3 CONCLUSION

Les algorithmes et les techniques d'estimation des paramètres du sperme humain dans une séquence microscopique ont été discutés dans ce chapitre. L'architecture du CASA que nous avons proposé a été inspirée des recherches antérieures présentées dans le chapitre précédent mais modifiée selon l'objectif visé de manière à résoudre les problèmes rencontrés. Cette architecture comporte des étapes semblables à celles d'un système de reconnaissance de formes générique.

Notre système CASA commence par un prétraitement de chaque image composant la vidéo microscopique. Chaque image a subi un traitement spécial de réduction de bruit qui se base sur les ondelettes. Pour la détection d'objets d'intérêt (spermatozoïdes) on est passé par l'étape de segmentation. A cause de la complexité du sperme humain et de la difficulté de différencier entre les spermatozoïdes et les débris, nous avons utilisé les SVM comme algorithme de classification pour reconnaître et classifier les spermatozoïdes.

Après on passe à l'estimation et l'évaluation des paramètres de sperme. Dans notre thèse, on s'est intéressé à la concentration, la motilité et les paramètres cinétiques de nage d'un spermatozoïde. Pour la concentration, on s'est basé sur la grande similarité de la tête du spermatozoïde humain avec la forme elliptique. Ce sont les caractéristiques géométriques de l'ellipse qui ont été utilisées comme vecteur de caractéristiques pour la phase de classification. Pour la motilité, les algorithmes les plus adéquats sont les algorithmes de soustraction de fond contrairement au flux optique qui souffre du problème des mouvements rapides des queues de sperme qui couvrent une large zone et provoquent des difficultés majeures dans l'identification de l'emplacement exact des spermatozoïdes.

Pour définir le type de mouvement de chaque spermatozoïde mobile, le filtre de Kalman est l'outil performant qui permet de résoudre les problèmes d'estimation d'état instantané d'un système dynamique linéaire perturbé et noyé dans du bruit qui est le cas de notre sperme. Ceci peut être projeté au suivi d'objets en mouvement dans une scène. L'avantage majeur de la méthode du filtre de Kalman est le fait qu'il puisse fournir à chaque itération une estimation des matrices de covariance d'erreur et de l'état. Il faut toutefois initialiser correctement ces matrices.

Dans le chapitre suivant, nous allons présenter les résultats expérimentaux de l'implémentation des différents modules de notre CASA ainsi que les discussions et critiques de ces résultats.

Chapitre IV :

IMPLEMENTATION ET RESULTATS EXPERIMENTAUX

IV.1 INTRODUCTION

Dans ce chapitre, nous allons présenter les outils utilisés lors de l'expérimentation ainsi que les résultats d'implémentation obtenus. Nous consacrerons la deuxième section pour présenter les outils d'expérimentation comprenant la plate-forme matérielle et logicielle d'implémentation ainsi que les bases de données exploitées pour tester nos algorithmes. Dans la troisième section, nous présenterons les résultats expérimentaux obtenus lors de l'implémentation du module du prétraitement qui concerne les techniques de réduction du bruit. Une quatrième section sera consacrée à la présentation des résultats de l'implémentation du module de segmentation. La section suivante concernera l'implémentation et l'évaluation du module le plus important de notre système qui est la reconnaissance des vrais spermatozoïdes parmi les bruits et débris. Dans cette même section, nous allons présenter le mode d'évaluation de la concentration de spermatozoïdes en utilisant les directives de l'OMS. Dans la dernière section, nous présenterons les résultats d'implémentation du module d'évaluation de la motilité et des paramètres cinétiques des spermatozoïdes.

IV.2 OUTILS D'EXPERIMENTATION

IV.2.1 LA PLATEFORME MATERIELLE ET LOGICIELLE UTILISEE

L'implémentation des différents algorithmes présentés dans le chapitre précédent a été réalisée sur le logiciel MATLAB version 2018. Le calculateur utilisé est une station de travail tournant sous le système d'exploitation Windows 10 – 64 bits et dont la configuration est à base d'un processeur i5 cadencé à 2.40 GHz de fréquence et une mémoire RAM de 6 Go.

IV.2.2 BASES DE DONNEES EXPLOITEES

Comme mentionné dans le chapitre précédent, la non disponibilité des bases de données (vidéos ou d'images) de sperme humain libres d'accès sur Internet, nous a poussé à tisser des connaissances avec des chercheurs actifs dans le domaine à travers le monde et de là échanger des bases de données et des résultats avec nous. Nous avons pu acquérir deux bases de données dont les séquences vidéo microscopiques du sperme humain ont été acquises en respectant les conditions et protocoles de l'OMS pour l'enregistrement.

a) La première base de données (Data-Base 1)

Les images contenues dans cette BD ont été capturées par un microscope à contraste de phase ayant un grossissement de '×120' et une résolution de '240 × 320' pixels. Cet ensemble d'images met en jeu un grand nombre de spermatozoïdes dans le but de faire l'évaluation de la motilité et de la concentration. Les images de cette BD ont déjà été utilisées en 2014 par Imani dans son travail qui évalue la motilité et le suivi des spermatozoïdes (Imani et al., 2014).

Cette base contient 08 vidéos avec une fréquence d'image 25images/seconde. Les vidéos sont décrites comme suit dans tableau suivant :

Tableau IV.1. Description de la première BD

| Vidéo # | Durée (secondes) | Nombre d'images |
|-----------|------------------|-----------------|
| Vidéo # 1 | 18 | 450 |
| Vidéo # 2 | 10 | 250 |
| Vidéo # 3 | 63 | 1575 |
| Vidéo # 4 | 76 | 1900 |
| Vidéo # 5 | 09 | 225 |
| Vidéo # 6 | 16 | 400 |
| Vidéo # 7 | 17 | 425 |
| Vidéo # 8 | 20 | 500 |

b) La deuxième base de données (Data-Base 2)

Les images contenues dans cette BD sont de type mono-spermatozoïdes. Elles ont été capturées par un microscope à contraste de phase ayant un grossissement de '×600' avec une résolution de '576 × 764' pixels. Ces images sont destinées à l'analyse de la morphologie des spermatozoïdes. Cette BD a été utilisée en 2015 par Ghasemian dans son travail qui s'intéresse à l'estimation du paramètre de morphologie des spermatozoïdes (Ghasemian et al., 2015).

Dans la phase de test et d'évaluation du système proposé, nous avons utilisé un ensemble de 5978 images de sperme issues des deux bases de données citées précédemment.

IV.3 RESULTATS DU MODULE DE PRETRAITEMENT

Dans cette section, nous évaluons qualitativement et quantitativement les résultats des différentes techniques proposées pour le prétraitement des images microscopiques du sperme humain. Les images utilisées pour cette évaluation sont issues des 2 bases de données citées précédemment qui contiennent différents nombres de spermatozoïdes, à différentes tailles d'image et différentes magnitudes. Pour la comparaison des résultats, il faut adopter une métrique d'évaluation qui soit la plus objective possible.

IV.3.1 METRIQUES D'EVALUATION

Afin de mesurer la robustesse et procéder à une comparaison entre les algorithmes implémentés, le choix de la métrique d'évaluation est primordial. Pour cela, nous avons préféré commencer par présenter en premier lieu la technique d'évaluation visuelle et ses défauts ensuite les deux métriques largement utilisées dans le domaine du traitement du signal et de l'image.

a) L'évaluation visuelle des résultats

L'œil humain est un outil essentiel pour apprécier la qualité d'une image. Il va permettre à l'utilisateur d'identifier le contenu des images, la netteté de celles-ci, la présence d'artefacts et la

qualité des contours. Il est donc capital que les méthodes de débruitage prennent en compte le système optique humain. Cependant, cette évaluation ne peut être que subjective puisqu'il n'existe aucune mesure correcte pouvant traduire fidèlement la perception de l'œil humain (Ghazel et al., 2004). Sans pour autant négliger le critère subjectif, il est préférable d'introduire des critères objectifs. Les plus célèbres critères utilisés dans la littérature sont « l'indice de similarité structurelle » (SSIM) et le « rapport signal sur bruit de crête » (PSNR).

b) Le Rapport Signal sur Bruit de Crête (PSNR : peak signal to noise ratio)

Etant données deux images I (image brute) et T (image traitée) de dimensions (M×N) pixels. Nous appelons 'MSE' la moyenne des carrés des différences entre les deux images I et T exprimée par (Chen et al., 1994) :

$$MSE = \frac{1}{M.N} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N \|I(i, j) - T(i, j)\|^2 \quad (\text{eq. IV.1})$$

Il en découle une métrique, appelée « rapport signal sur bruit de crête » ou PSNR qui est le rapport entre la valeur maximale possible de l'image (pour une image dont le pixel est codé sur 8 bits, $\max(I)$ est égal à 255) et le MSE. Le PSNR est généralement exprimé en termes d'échelle logarithmique en décibels (Ece et al., 2011) :

$$PSNR = 10 \log \left(\frac{\max(I)^2}{MSE} \right) \quad (\text{eq. IV.2})$$

Plus le PSNR est élevé, meilleur est le traitement subi par l'image.

c) Indice de similarité structurelle (SSIM)

L'indice de similarité structurelle (SSIM) a pour principale philosophie sous-jacente l'approche originale du SSIM, à savoir que le système visuel humain est hautement adapté pour extraire des informations structurelles des scènes visuelles (Wang et al., 2002). L'indice moyen de similarité structurelle décompose la comparaison entre l'image originale I et l'image déformée T en trois comparaisons : la luminance, le contraste et les comparaisons structurelles. La mesure de l'indice de similarité structurelle entre les images I et T est donnée par l'équation (eq. IV.3) (Wang et al., 2002) :

$$SSIM(I, T) = \frac{(2\mu_I\mu_T + C1)(2\sigma_{IT} + C2)}{(\mu_I^2 + \mu_T^2 + C1)(\sigma_I^2 + \sigma_T^2 + C2)} \quad (\text{eq. IV.3})$$

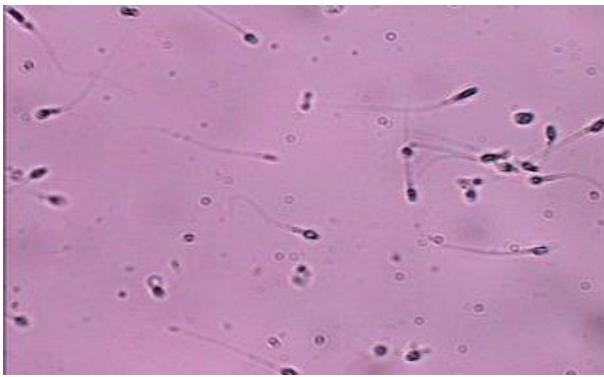
Où μ_I , μ_T désignent les valeurs moyennes des images originales et déformées, et σ_I , σ_T indiquent l'écart-type des images originales et déformées, et σ_{IT} est la covariance des deux images. C1 et C2 sont des constantes (Wang et al., 2002).

IV.3.2 RESULTATS EXPERIMENTAUX

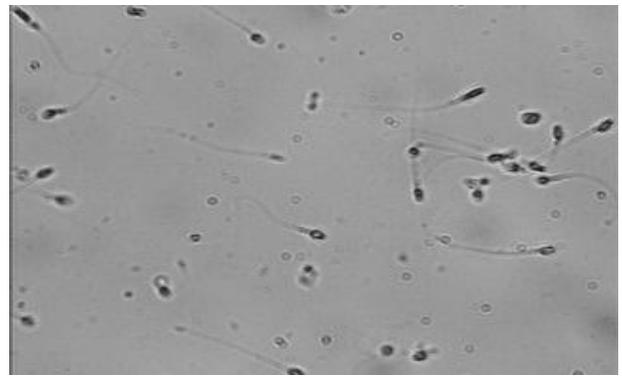
Nous avons exposé le principe de fonctionnement de plusieurs techniques du prétraitement des images au paragraphe III.3.3 du chapitre III. Pour évaluer leurs performances, nous avons pris quelques images des deux bases de données et nous les avons perturbées à l'aide des deux types de bruits les plus fréquents en imagerie microscopique qui sont « le bruit de chatoiement » (ou speckle noise) et « le bruit mixte Poisson-Gaussien ». Les résultats de comparaison et d'évaluation des algorithmes implémentés seront présentés dans cette partie selon les métriques retenues.

a) Résultats d'implémentation sur des images de la Data-Base 1 :

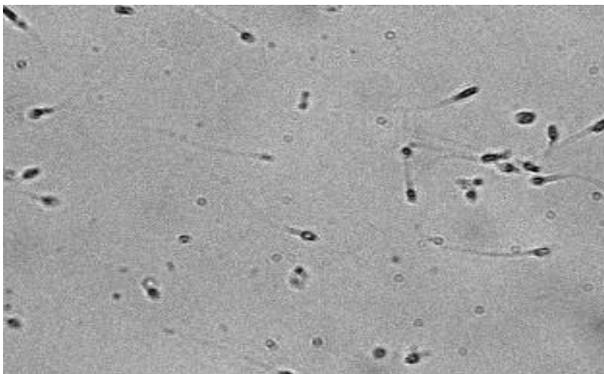
Pour l'évaluation des différentes techniques de prétraitement, nous avons bruité volontairement les images brutes de la première base de données avec les deux types de bruits. Dans la figure IV.1, nous montrons :



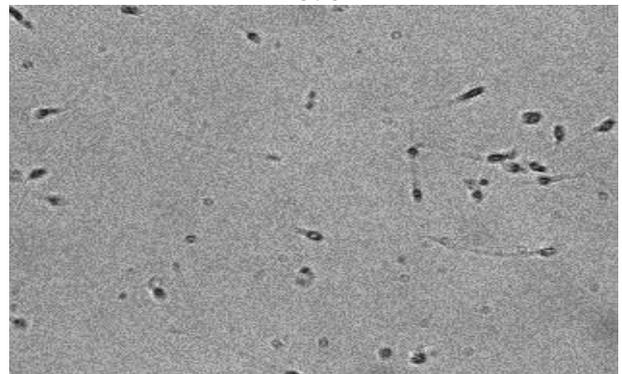
IM1-1 : Image originale RVB



IM1-2 : Le canal 'Y' de l'image IM1 convertie en YCbCr



IM1-3 : Obtenue par bruitage de l'image IM2 par du bruit « Mixte Poisson-Gaussien »



IM1-4 : Obtenue par bruitage de l'image IM2 par du bruit « Chatoiement »

Figure IV.1 : Bruitage des images de la Data-Base 1.

- IM1-1 : l'image RVB prise au hasard dans la Data-Base 1 ($\times 120$ magnitudes) ;
- IM1-2 : la 'composante Y' de la même image IM1 convertie en YCbCr ;
- IM1-3 : c'est l'image IM2 perturbée avec un bruit « mixte Poisson-Gaussien » avec $\zeta=0,4$ et $\sigma=0,6$;
- IM1-4 : c'est l'image IM2 perturbée avec un bruit « chatoiement » avec une densité de 0.2.

Les figures IV.2 et IV.3 montrent, respectivement, les résultats du traitement par différentes méthodes de prétraitement sur l'image bruitée par les deux types de bruit.

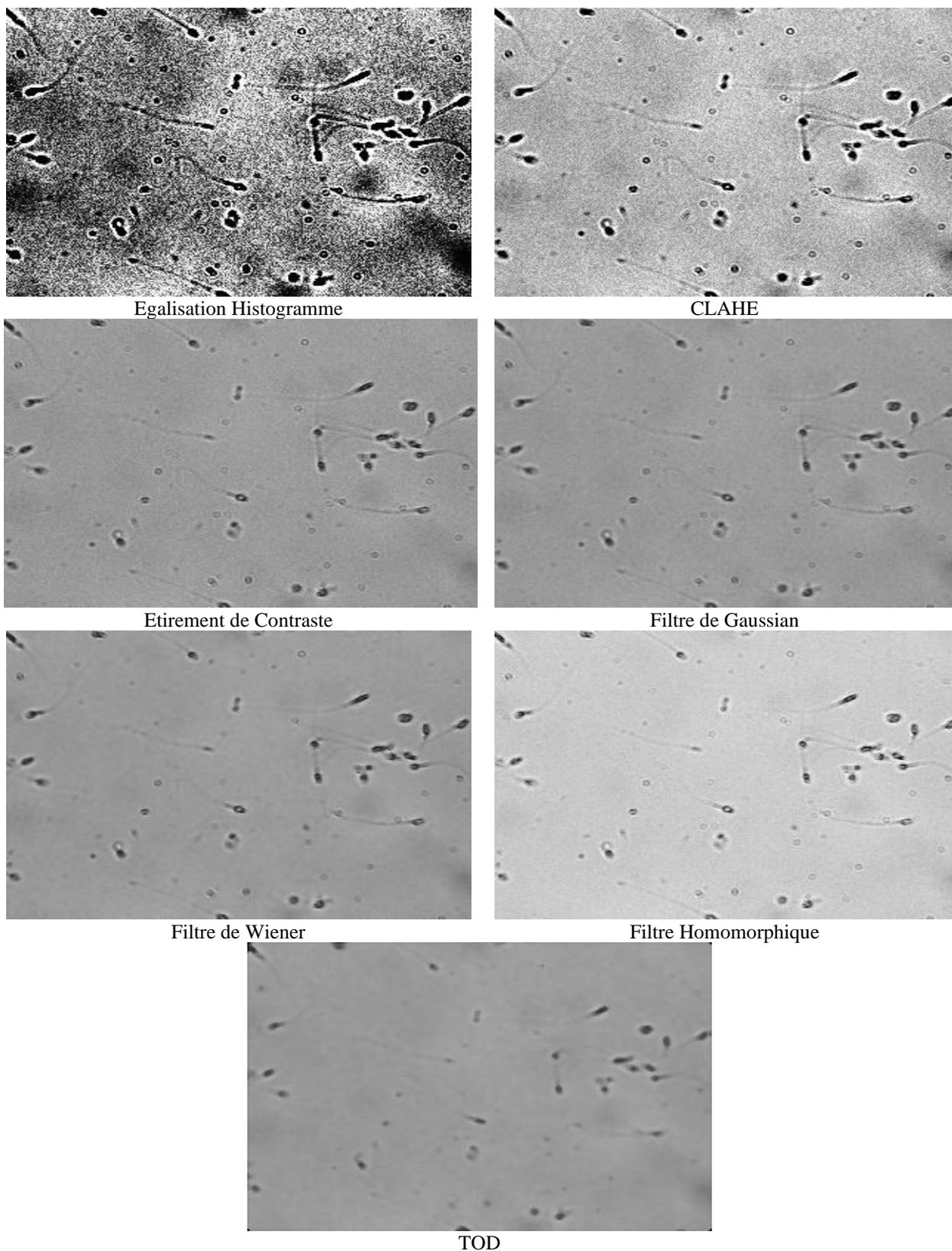
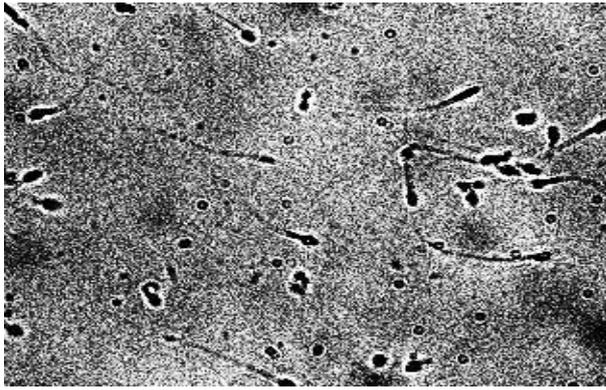
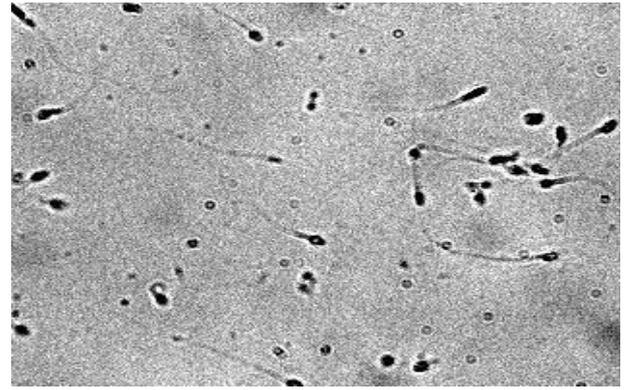


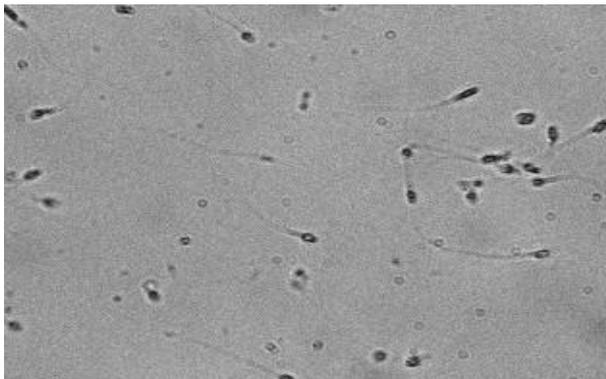
Figure IV.2 : Résultats du prétraitement sur les images bruitées par « bruit de chatoisement » de la Data-Base 1.



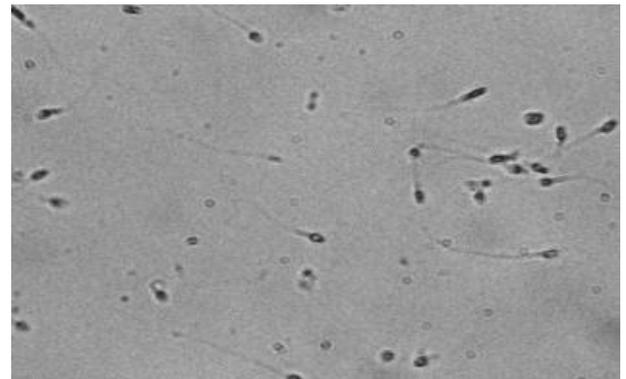
Egalisation Histogramme



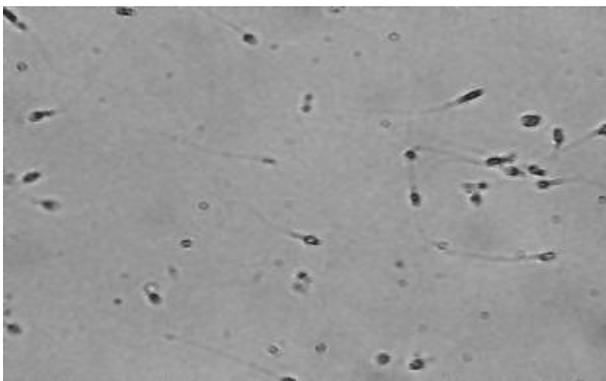
CLAHE



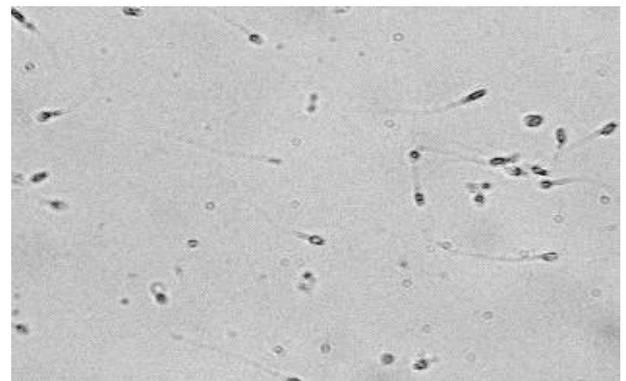
Etirement de Contraste



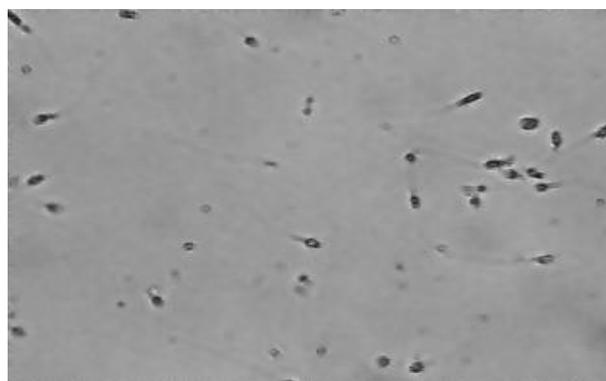
Filtre de Gaussian



Filtre de Wiener



Filtre Homomorphique



TOD

Figure IV.3 : Résultats du prétraitement sur les images bruitées par « bruit mixte Poisson-Gaussien » de la Data-Base 1.

Les tableaux IV.2 et IV.3 montrent une comparaison entre les résultats de prétraitement selon les deux métriques PSNR et SSIM obtenus par les différentes méthodes. Vous remarquerez que nous avons calculé les valeurs pour seulement cinq images « échantillon » prises au hasard de la Data-Base 1 pour ne pas encombrer notre manuscrit.

Lors de l'implémentation de ces techniques de prétraitement, il a fallu régler quelques paramètres relatifs à chacune de ces techniques. Nous avons effectué expérimentalement des comparaisons pour différentes valeurs de ces paramètres et nous en avons choisi les plus optimaux.

A titre indicatif, les valeurs optimales retenues sont :

- Pour le filtre Gaussien : taille du masque = 3×3 et écart type : $\sigma = 0.9$;
- Pour le filtre médian : taille du masque = 3×3 ;
- Pour le filtre Homomorphique : $a = 0.7$, $b = 1.2$.
- Pour le filtre LoG : taille du masque = 5×5 et écart type $\sigma = 0.4$;
- Pour la transformée en ondelettes discrète (TOD) : choix de l'ondelette mère : « Coifflet » ; et on a continué la décomposition jusqu'au quatrième niveau pour éliminer la majeure partie de bruit.

Tableau IV.2 : Les valeurs du PSNR et du SSIM obtenues lors des tests des différentes techniques de prétraitement et ce pour 5 différentes d'images prises de la Data-Base 1 puis bruitées par le bruit « Speckle »

| Techniques de prétraitement | Bruit de type « Speckle » | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | PSNR | | | | | SSIM | | | | |
| | Image1 | Image2 | Image3 | Image4 | Image5 | Image1 | Image2 | Image3 | Image4 | Image5 |
| Egalisation Histogramme | 10.5263 | 10.4025 | 10.4475 | 10.7414 | 10.7185 | 0.0564 | 0.0477 | 0.0416 | 0.0480 | 0.0479 |
| CLAHE | 15.8070 | 13.6821 | 14.7868 | 14.7111 | 14.8778 | 0.1531 | 0.0834 | 0.0802 | 0.0891 | 0.0922 |
| Étirement du contraste | 34.2977 | 34.3507 | 34.4428 | 34.8574 | 34.8449 | 0.7631 | 0.7587 | 0.7573 | 0.7767 | 0.7767 |
| Filtre Gaussien | 37.4665 | 37.6025 | 37.7305 | 38.1062 | 38.1115 | 0.8729 | 0.8709 | 0.8716 | 0.8825 | 0.8831 |
| Filtre Médian | 35.7788 | 36.1866 | 36.5417 | 36.8084 | 36.7737 | 0.8656 | 0.8665 | 0.8761 | 0.8837 | 0.8835 |
| Filtre Wiener | 34.0266 | 34.9136 | 35.1663 | 34.9647 | 34.9310 | 0.8737 | 0.8841 | 0.8977 | 0.8959 | 0.8955 |
| Filtre Homomorphique | 14.9309 | 15.3138 | 15.9735 | 15.7594 | 15.5099 | 0.6585 | 0.6766 | 0.6218 | 0.6118 | 0.5984 |
| Ondelettes (TOD) | 38.7666 | 38.9716 | 39.5064 | 39.6621 | 39.6414 | 0.9039 | 0.9038 | 0.9138 | 0.9183 | 0.9185 |

Tableau IV.3 : Les valeurs du PSNR et du SSIM obtenues lors des tests des différentes techniques de prétraitement et ce pour 5 différentes d'images prises de la Data-Base 1 puis bruitées par le bruit « Mixte Poisson-Gaussien »

| Techniques de prétraitement | Bruit de type « Mixte Poisson-Gaussien » | | | | | | | | | |
|-----------------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | PSNR | | | | | SSIM | | | | |
| | Image1 | Image2 | Image3 | Image4 | Image5 | Image1 | Image2 | Image3 | Image4 | Image5 |
| Egalisation Histogramme | 10.4683 | 10.3444 | 10.4360 | 10.6657 | 10.6740 | 0.0454 | 0.0380 | 0.0346 | 0.0380 | 0.0384 |
| CLAHE | 15.7909 | 13.3531 | 14.2955 | 14.2394 | 14.2609 | 0.0996 | 0.0656 | 0.0649 | 0.0665 | 0.0672 |
| Étirement du contraste | 30.1453 | 30.1977 | 30.2815 | 30.4219 | 30.4682 | 0.5634 | 0.5554 | 0.5543 | 0.5658 | 0.5687 |
| Filtre Gaussien | 34.6213 | 35.0168 | 35.3350 | 35.4265 | 35.4339 | 0.8235 | 0.8247 | 0.8356 | 0.8399 | 0.8411 |
| Filtre Médian | 33.7022 | 33.8000 | 33.9121 | 34.0121 | 34.0562 | 0.7411 | 0.7369 | 0.7388 | 0.7462 | 0.7482 |
| Filtre Wiener | 33.6935 | 34.5404 | 34.7736 | 34.4759 | 34.5473 | 0.8603 | 0.8701 | 0.8846 | 0.8811 | 0.8811 |
| Filtre Homomorphique | 14.8119 | 14.6765 | 15.4070 | 12.4878 | 14.6736 | 0.4967 | 0.4533 | 0.4740 | 0.4154 | 0.4286 |
| Ondelettes (TOD) | 36.7413 | 36.9451 | 37.2969 | 37.2672 | 37.3111 | 0.8604 | 0.8604 | 0.8702 | 0.8728 | 0.8742 |

Dans la figure IV.4 ci-dessous, nous avons fait la représentation graphique du PSNR et du SSIM pour les deux types de bruits et différentes techniques de prétraitement. Aussi, pour ne pas encombrer le manuscrit, nous nous sommes contentés de faire la représentation que pour la première image (image1). Les résultats pour les 4 autres images sont très proches.

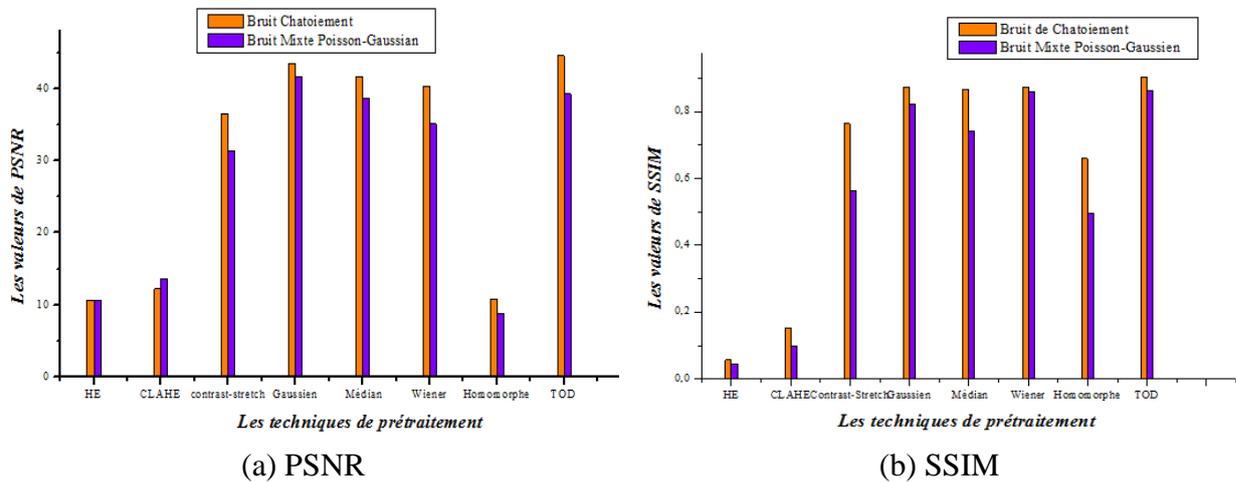


Figure IV.4 : Représentation graphique des valeurs du PSNR (a) et du SSIM (b) relatives à l'image 1 (Data-Base 1) bruitées avec les deux types de bruits et traitées par différentes techniques de prétraitement

b) Résultats d'implémentation sur des images de la Data-Base 2 :

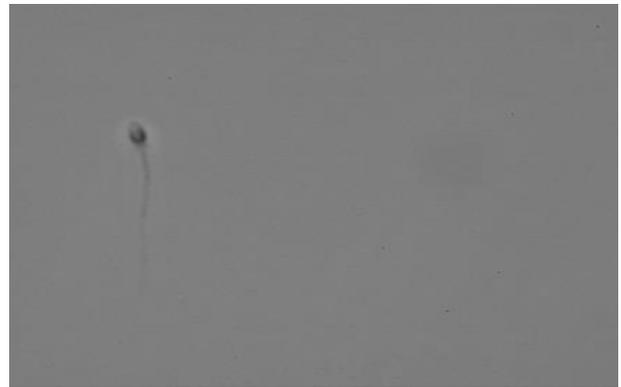
De la même manière que pour les images de la Data-Base 1 (faible magnitude : $\times 120$), nous avons pris des images « mono-objet » de la Data-Base 2 (forte magnitude : $\times 400$). Pour l'évaluation des différentes techniques de prétraitement sur celles-ci, nous les avons bruitées volontairement avec les deux types de bruits.

Dans la figure IV.5, nous montrons :

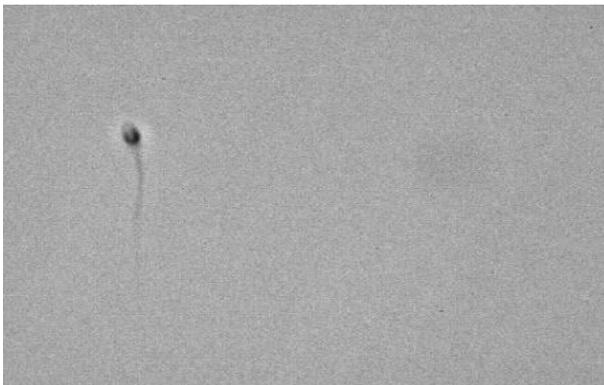
- IM2-1 : l'image RVB prise au hasard dans la base de données ($\times 400$ magnitudes);
- IM2-2 : la 'composante Y' de la même image IM2-1 convertie en YCbCr;
- IM2-3 : c'est l'image IM2-2 perturbée avec un bruit « mixte Poisson-Gaussien » avec $\zeta=0,4$ et $\sigma=0,6$.
- IM2-4 : c'est l'image IM2-2 perturbée avec un bruit « chatoisement » avec une densité de 0.2.



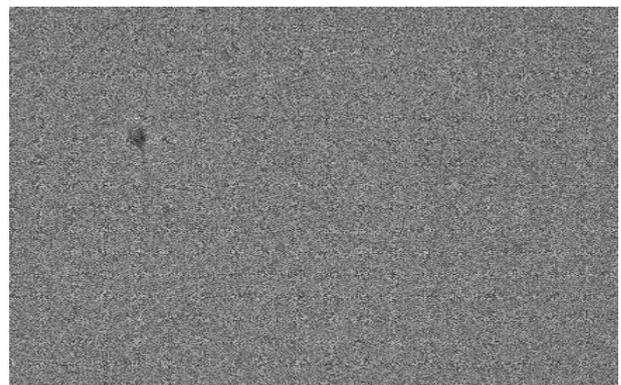
IM2-1 : Image originale RVB



IM2-2 : Le canal 'Y' de l'image IM2-1 convertie en YCbCr



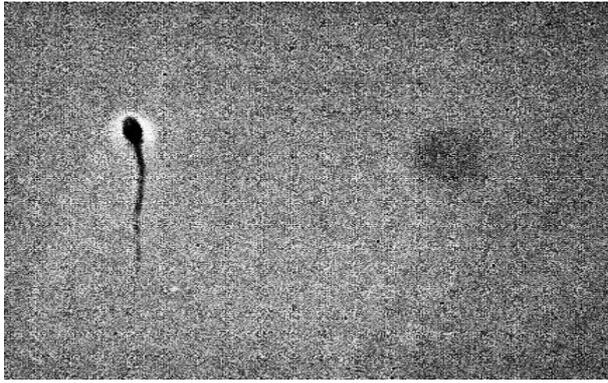
IM2-3 : Obtenue par bruitage de l'image IM2-2 par du bruit « Mixte Poisson-Gaussien »



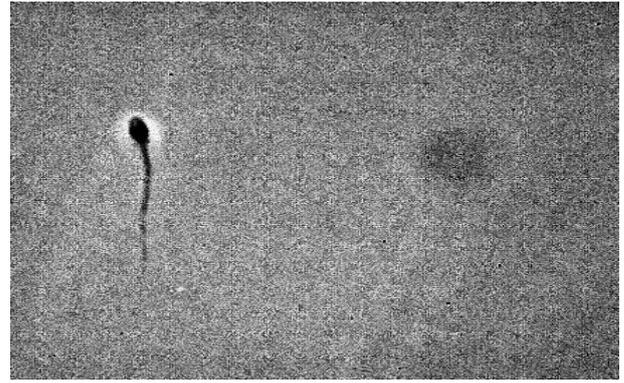
IM2-4 : Obtenue par bruitage de l'image IM2-2 par du bruit « Chatoisement »

Figure IV.5: Bruitage des images de la Data-Base 2

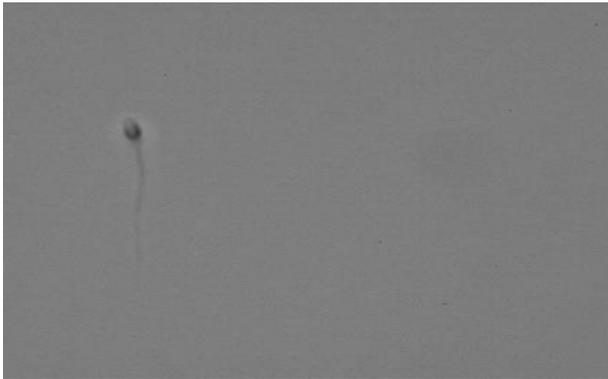
Les figures IV.6 et IV.7 montrent, respectivement, les résultats du traitement par différentes méthodes de prétraitement sur l'image bruitée par les deux types de bruit.



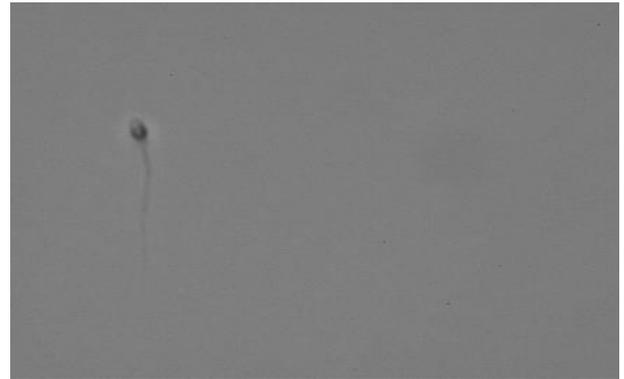
Egalisation Histogramme



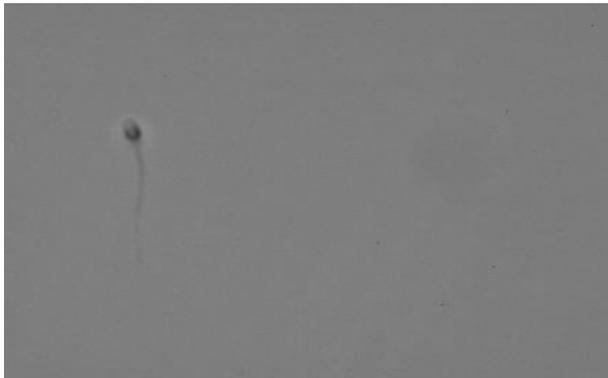
CLAHE



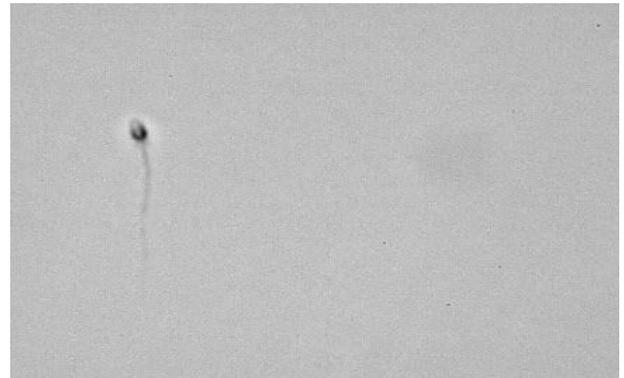
Étirement de Contraste



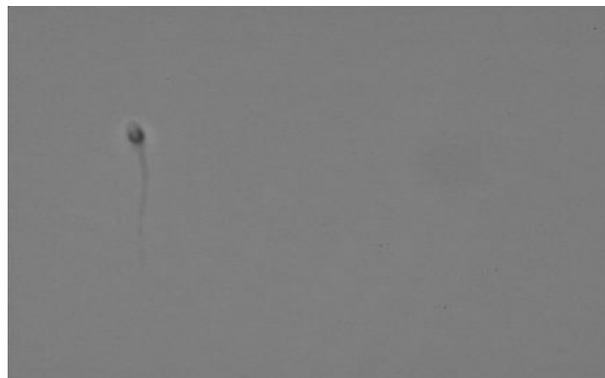
Filtre de Gaussian



Filtre de Wiener

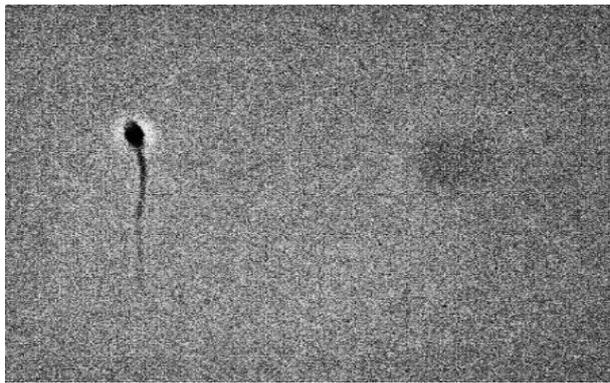


Filtre Homomorphique

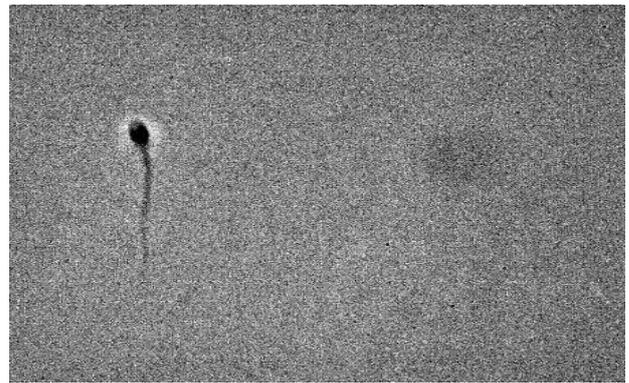


TOD

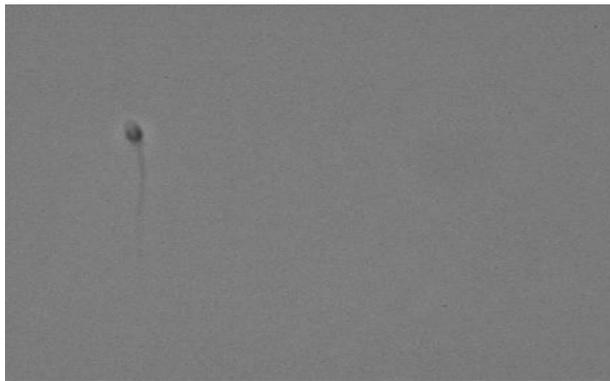
Figure IV.6 : Résultats du prétraitement sur les images bruitées par « bruit de chatoisement » de Data-Base 2.



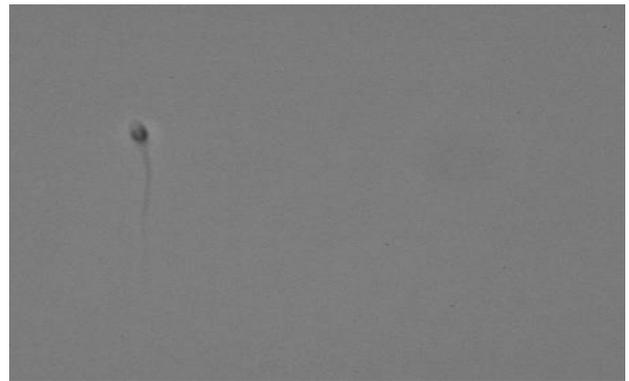
Egalisation Histogramme



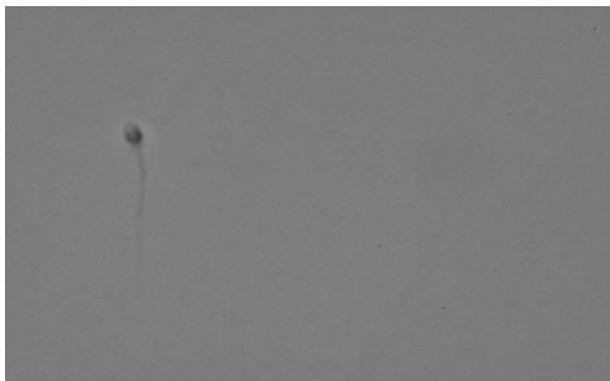
CLAHE



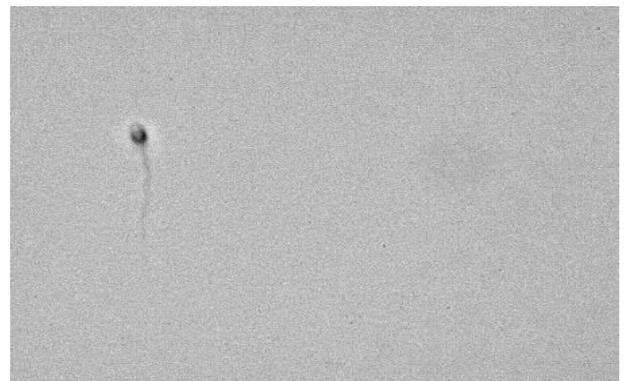
Etirement de Contraste



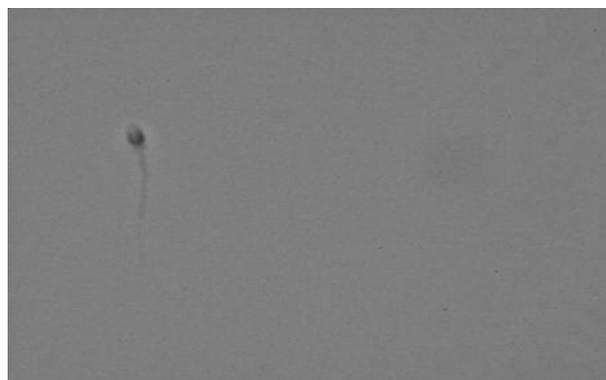
Filtre de Gaussian



Filtre de Wiener



Filtre Homomorphique



TOD

Figure IV.7 : Résultats du prétraitement sur les images bruitées par « bruit mixte Poisson-Gaussien » de la Data-Base 2.

Les tableaux IV.4 et IV.5 montrent une comparaison entre les résultats de prétraitement selon les deux métriques PSNR et SSIM obtenus par les différentes méthodes. Vous remarquerez que nous avons procédé de la même manière que pour Data-Base 1 en calculant les valeurs pour seulement cinq images « échantillon » prises au hasard de la Data-Base 2 pour ne pas encombrer notre manuscrit. Les mêmes paramètres optimaux utilisés (voir IV.3.2.a) relatifs aux différentes techniques de prétraitement ont été gardés.

Tableau IV.4 : Valeurs du PSNR et du SSIM obtenues lors des tests des différentes techniques de prétraitement et ce pour 5 différentes d’images prises de Data-Base 2 puis bruitées par le « Bruit Speckle »

| Techniques de prétraitement | Bruit de type « Speckle » | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | PSNR | | | | | SSIM | | | | |
| | Image1 | Image2 | Image3 | Image4 | Image5 | Image1 | Image2 | Image3 | Image4 | Image5 |
| Egalisation Histogramme | 10.6303 | 10.7592 | 10.778 | 10.8161 | 10.7973 | 0.0205 | 0.0190 | 0.0211 | 0.0366 | 0.0264 |
| CLAHE | 12.2455 | 12.2355 | 12.2381 | 12.8546 | 12.6649 | 0.0283 | 0.0258 | 0.0284 | 0.0519 | 0.0376 |
| Étirement du contraste | 36.5885 | 35.9057 | 36.1194 | 35.7279 | 36.1064 | 0.8170 | 0.7916 | 0.8008 | 0.8017 | 0.8055 |
| Filtre Gaussien | 43.4758 | 43.2349 | 43.0818 | 40.3488 | 42.3092 | 0.9659 | 0.9653 | 0.9630 | 0.9235 | 0.9530 |
| Filtre Médian | 41.6140 | 41.0835 | 41.2079 | 38.8359 | 39.5731 | 0.9430 | 0.9364 | 0.9379 | 0.8902 | 0.9039 |
| Filtre Wiener | 40.3182 | 39.6565 | 39.8571 | 39.2492 | 39.6885 | 0.9159 | 0.9031 | 0.9076 | 0.9011 | 0.9054 |
| Filtre Homomorphique | 10.7744 | 10.2643 | 11.6779 | 9.2219 | 11.8500 | 0.2970 | 0.3397 | 0.3764 | 0.3696 | 0.4316 |
| Ondelettes (TOD) | 44.6215 | 44.1983 | 44.2046 | 40.4686 | 41.3705 | 0.9701 | 0.9674 | 0.9673 | 0.9197 | 0.9318 |

Tableau IV.5 : Valeurs du PSNR et du SSIM obtenues lors des tests des différentes techniques de prétraitement et ce pour 5 différentes d’images prises de la Data-Base 2 puis bruitées par le bruit « mixte Poisson-Gaussien »

| Techniques de prétraitement | Bruit de type « Mixte Poisson-Gaussien » | | | | | | | | | |
|-----------------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | PSNR | | | | | SSIM | | | | |
| | Image1 | Image2 | Image3 | Image4 | Image5 | Image1 | Image2 | Image3 | Image4 | Image5 |
| Egalisation Histogramme | 10.6591 | 10.7080 | 10.7366 | 10.7499 | 10.7276 | 0.0165 | 0.0157 | 0.0169 | 0.0275 | 0.0203 |
| CLAHE | 13.6596 | 13.6742 | 13.7069 | 13.5553 | 13.6836 | 0.0303 | 0.0291 | 0.0310 | 0.0451 | 0.0357 |
| Étirement du contraste | 31.3089 | 30.9872 | 31.1005 | 30.9002 | 31.0899 | 0.5756 | 0.5565 | 0.5646 | 0.5765 | 0.5719 |
| Filtre Gaussien | 41.5945 | 41.4585 | 41.3478 | 39.2560 | 40.7634 | 0.9517 | 0.9512 | 0.9491 | 0.9095 | 0.9389 |
| Filtre Médian | 38.6947 | 38.4168 | 38.4809 | 36.9265 | 37.4681 | 0.8965 | 0.8904 | 0.8920 | 0.8453 | 0.8587 |
| Filtre Wiener | 35.1222 | 34.8019 | 34.9144 | 34.6385 | 34.8509 | 0.7700 | 0.7561 | 0.7617 | 0.7620 | 0.7618 |
| Filtre Homomorphique | 8.8397 | 9.6268 | 10.9620 | 10.5103 | 11.4609 | 0.1873 | 0.1911 | 0.2361 | 0.2072 | 0.2482 |
| Ondelettes (TOD) | 39.3092 | 39.0974 | 39.1348 | 37.6980 | 38.1584 | 0.9079 | 0.9039 | 0.9046 | 0.8675 | 0.8767 |

Dans la figure IV.8 ci-dessous, nous avons fait la représentation graphique du PSNR et du SSIM pour les deux types de bruits et différentes techniques de prétraitement. Aussi, pour ne pas

encombrer le manuscrit, nous nous sommes contentés de faire la représentation que pour la première image (image1). Les résultats pour les 4 autres images sont très proches.

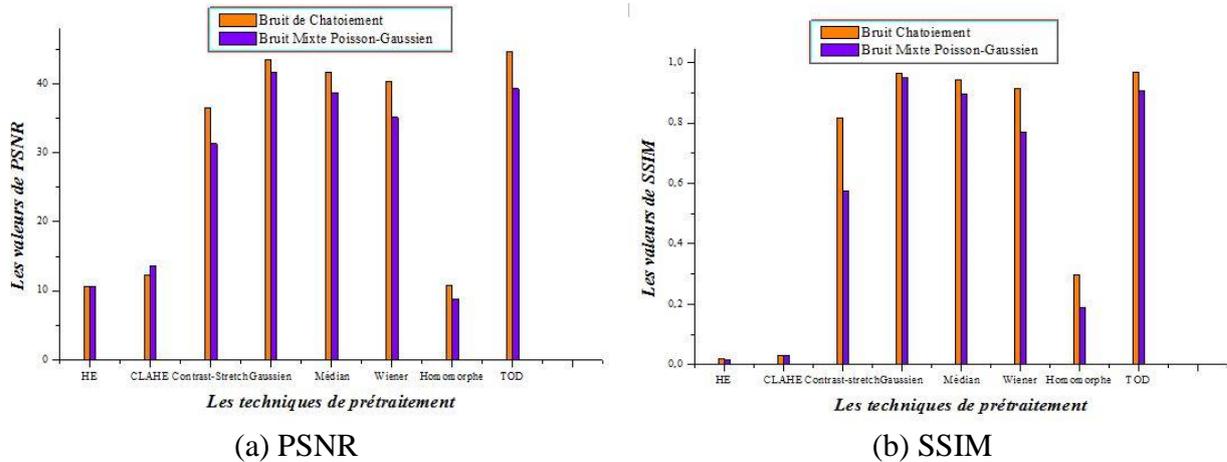


Figure IV.8 : Représentation graphique des valeurs du PSNR (a) et du SSIM (b) relatives à l'image1 de la Data-Base 2 bruitée avec les deux types de bruits et traitée par différentes techniques de prétraitement

c) Discussion des résultats de comparaison entre les techniques de prétraitement implémentées et choix de la technique optimale pour notre CASA:

Les résultats présentés dans les tableaux de IV.2 à IV.5 et les figures IV.2, IV.3, IV.6 et IV.7 montrent que les valeurs les plus élevées du PSNR et du SSIM sont obtenues lors de l'application du filtre Gaussien et de la transformée en ondelettes discrètes (TOD) et ce pour toutes les images de test (Data-Base 1 et Data-Base 2) et pour les deux types de bruit présents dans les images microscopiques du sperme. Les résultats obtenus par les méthodes de prétraitement basées sur la TOD peuvent être interprétés par le fait que cette méthode se base sur les propriétés statistiques de l'image bruitée dans plusieurs niveaux de résolution (meilleure représentation de l'image par la transformée en ondelettes). Pour le filtre gaussien, il est connu par la communauté scientifique du fait de sa grande capacité à réduire différents types de bruits. L'inconvénient de ce dernier filtre et qu'il dépend de deux critères, l'ouverture de la gaussienne (écart-type) et la taille du masque utilisé. Pour ces deux filtres cités plus haut, nous avons remarqué une nette amélioration du contraste et une préservation maximale de la luminosité pour tous types d'images médicales microscopiques à faible contraste.

Dans le cas du bruit speckle, les valeurs de PSNR et du SSIM, lors de l'application de l'algorithme d'étirement de contraste, sont remarquables mais pour l'autre type de bruit (mixte Poisson-Gaussien) les résultats sont moins bons. On remarque aussi que le filtre Médian a de bons résultats mais moins que le filtre gaussien et la TOD.

Suite aux conclusions présentées ci-dessus, nous avons choisi pour le « module de prétraitement » de notre CASA l'architecture suivante (figure IV.9) :

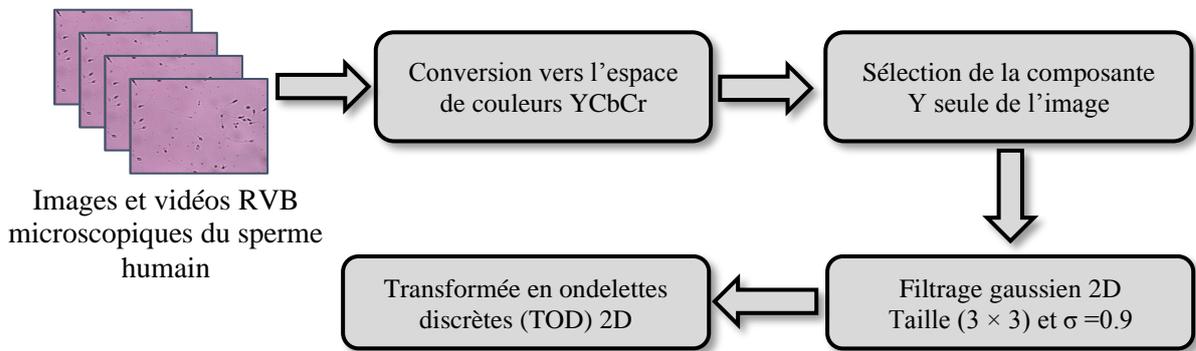


Figure IV.9 : Module du prétraitement retenu pour notre CASA

Après implémentation du module ci-dessus, nous avons présenté à son entrée, un ensemble de trois images différentes issues de Dat-Base 1, et nous avons obtenu les résultats d'exécution comme illustrés par les figures IV.10, IV.11 et IV.12.

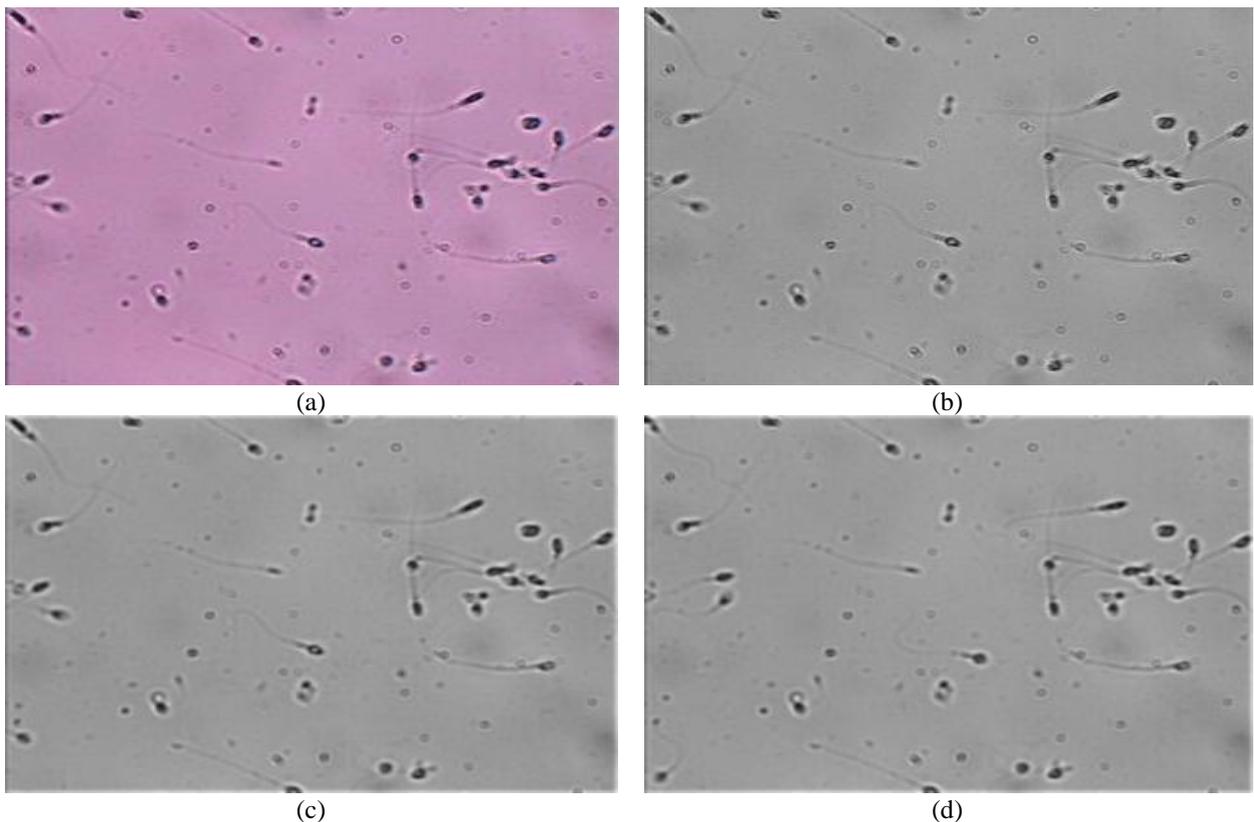


Figure IV.10 : Premier exemple d'une image de la Data-Base 1 traitée par l'approche proposée ;
 (a) Image originale ; (b) la composante Y de l'image dans l'espace YCbCr ;
 (c) image filtrée par le filtre Gaussien 2D ; (d) image finale obtenue par traitement TOD-2D

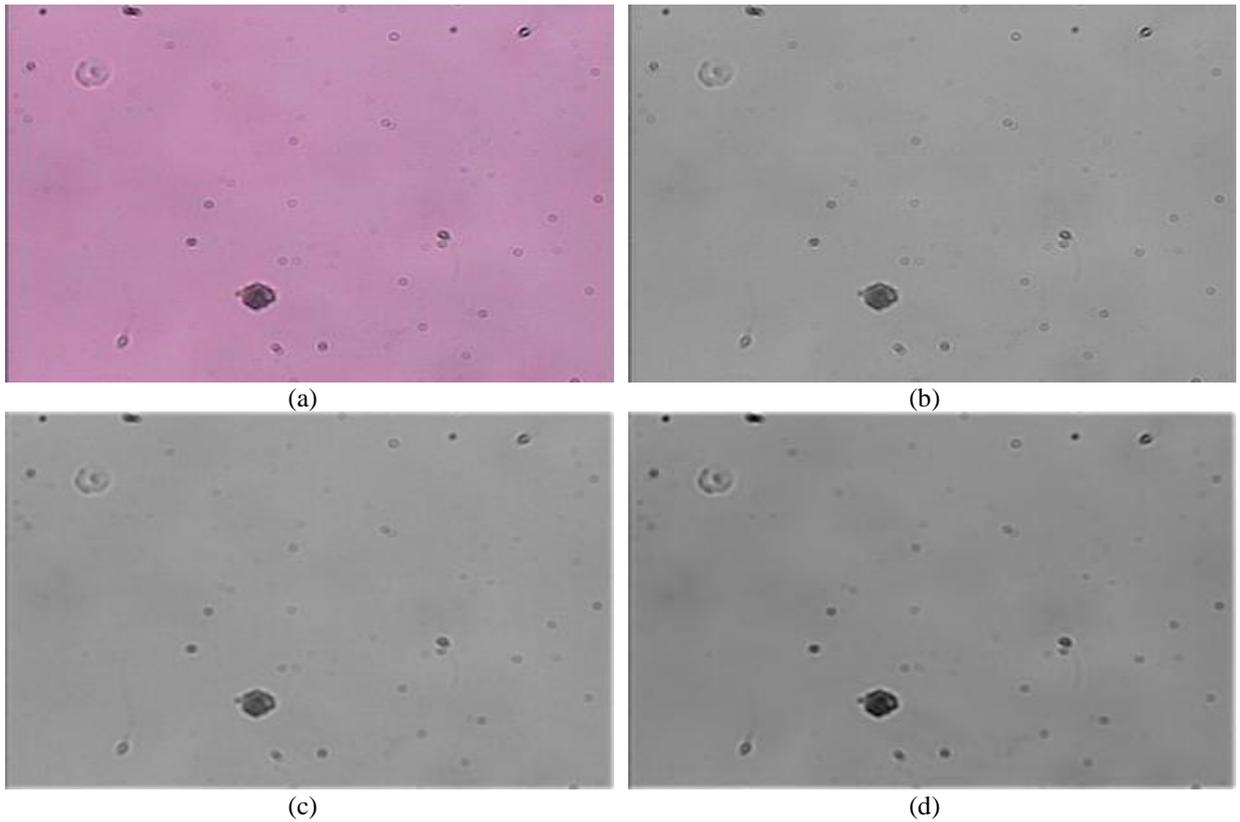


Figure IV.11 : Deuxième exemple d'une image de la Data-Base 1 traitée par l'approche proposée ;
 (a) Image originale ; (b) la composante Y de l'image dans l'espace YCbCr ;
 (c) image filtrée par le filtre Gaussien 2D ; (d) image finale obtenue par traitement TOD-2D

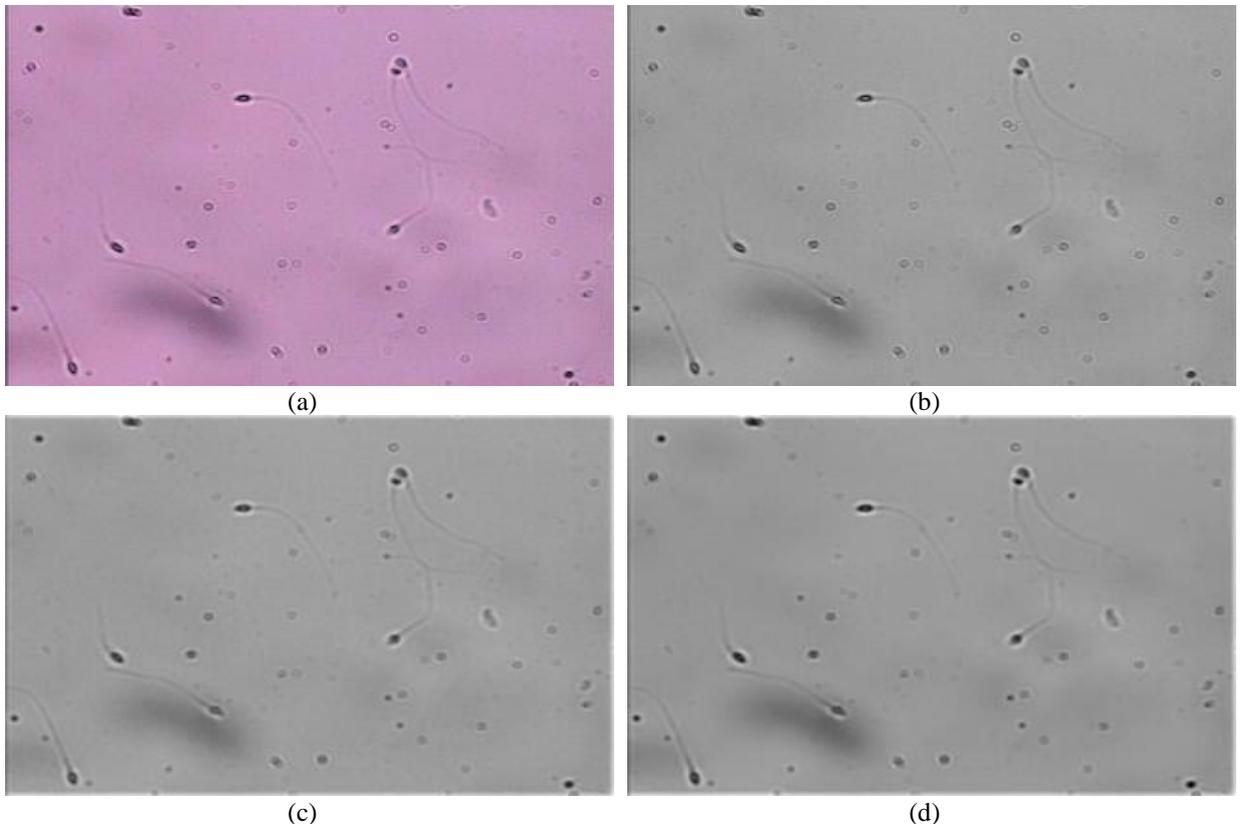


Figure IV.12 : Troisième exemple d'une image de la Data-Base 1 traitée par l'approche proposée ;
 (a) Image originale ; (b) la composante Y de l'image dans l'espace YCbCr ;
 (c) image filtrée par le filtre Gaussien 2D ; (d) image finale obtenue par traitement TOD-2D

IV.4 RESULTATS DU MODULE DE SEGMENTATION

Lors de la présentation du synoptique du module de segmentation au chapitre précédent (paragraphe III.2.2), nous avons insisté sur le fait que la segmentation en région basée sur la technique ‘Watershed’ ne pouvait isoler que les gros « blobs » tels que les gros débris, la tête et le Mid-pièce du spermatozoïde) qu’elle ne pouvait pas extraire la queue de celui-ci à cause de son très faible contraste. Pour résoudre ce problème, nous avons testé plusieurs techniques et celle qui a donné le meilleur résultat était d’hybrider avec la technique ‘Watershed’, une segmentation basée sur les contours en utilisant un filtrage médian suivi d’un détecteur de contour par masque de ‘Sobel’. Cette hybridation a été réalisée en faisant un « OU-logique » entre les images binaires issues des deux types de segmentation, comme illustrée par la figure III.4 (chapitre III).

IV.4.1 RESULTATS ET DISCUSSIONS

Nous allons commencer cette section par une comparaison des images résultantes des deux détecteurs de contours Sobel et Canny. Afin de choisir le plus adéquat, on a basé sur une évaluation visuelle qui sera présentée par la suite :

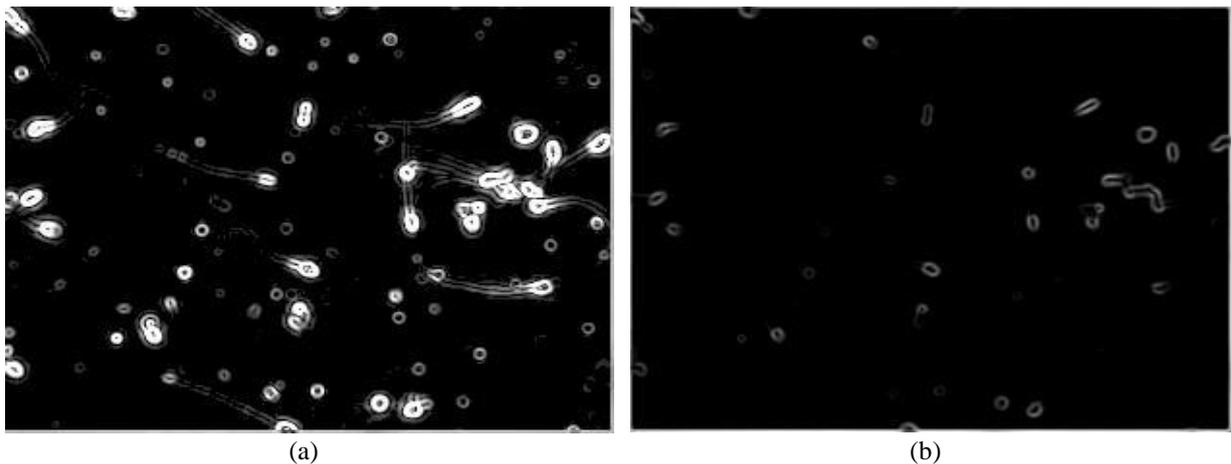


Figure IV.13 : Résultats de détection de contours par les deux détecteurs Canny et Sobel. (a) image segmentée par Sobel; (b) image segmentée par Canny .

Après implémentation du module de segmentation, nous l’avons testé sur des images de la base de données ‘Data Base 1’ (multi-objets et zoom $\times 120$). Les figures IV.14 à IV.16 montrent les résultats d’exécution obtenus pour trois différentes images prises au hasard.

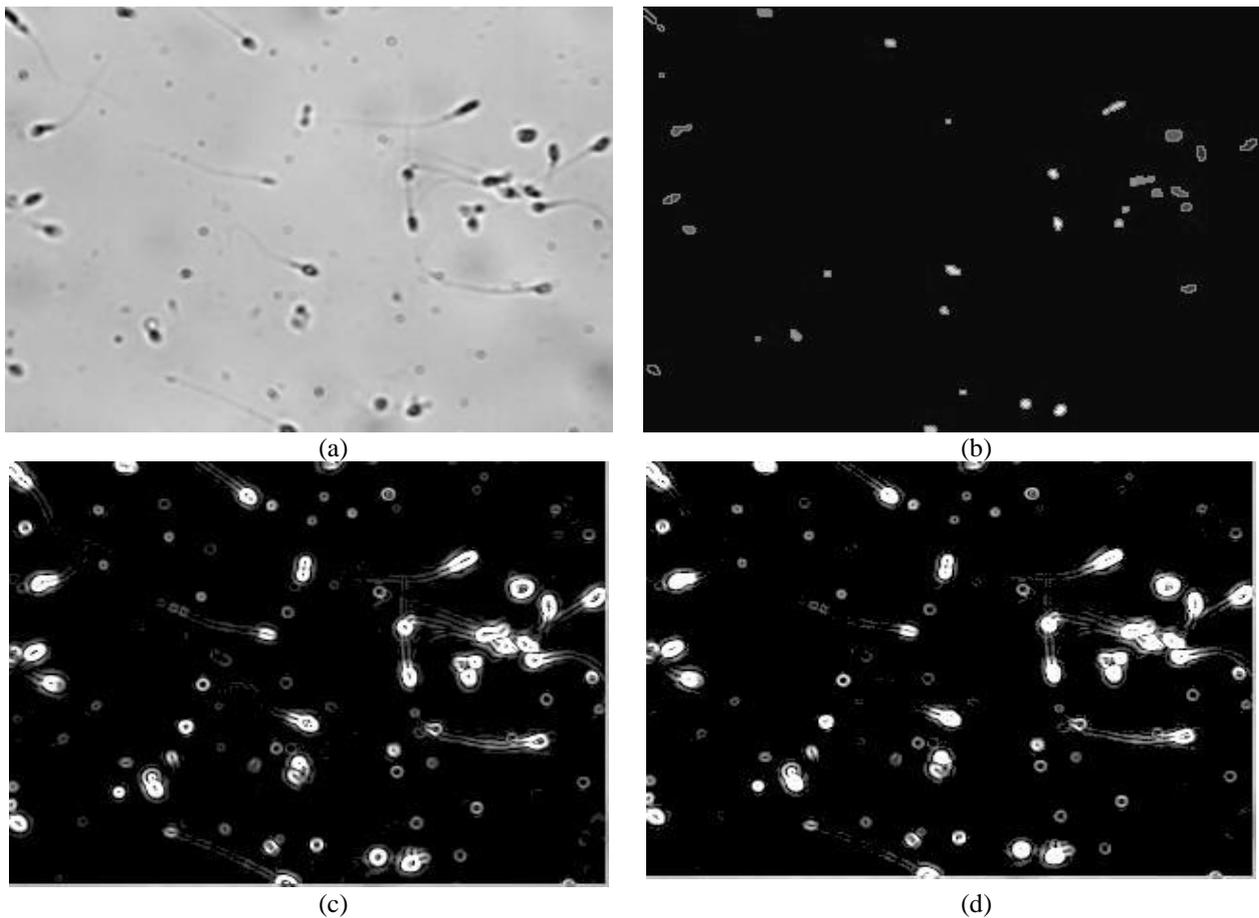


Figure IV. 14 : 1^{er} exemple de segmentation d'une image de la Data-Base 1 par la technique proposée : (a) image issue du module de prétraitement, (b) image segmentée par 'Watershed', (c) image segmentée par Sobel, (d) image obtenue par l'opérateur 'OU-logique' entre les images (b) et (c).

Dans les figures citées, l'image (a) montre l'image résultante de l'étape précédente de prétraitement. L'image (b) est obtenue après application de l'algorithme « WaterShed » de segmentation en régions. Nous remarquons que dans cette dernière image, les queues des spermatozoïdes sont omises et que seuls les gros blobs de pixels sont détectés (débris, têtes et mid-peace). L'image (c) est obtenue après application d'un filtrage médian suivi du détecteur de contours de Sobel. A l'issue de cette phase, nous remarquons que toutes les queues des spermatozoïdes ont été détectées. L'image illustrée en (d) est le résultat de l'hybridation des deux techniques de segmentation. Elle est obtenue par l'application de l'opérateur « OU-logique » entre les images (b) et (c).

Dans l'image résultante, nous obtenons toutes les parties du spermatozoïde (tête + mid-peace + queue) en plus des impuretés indésirables.

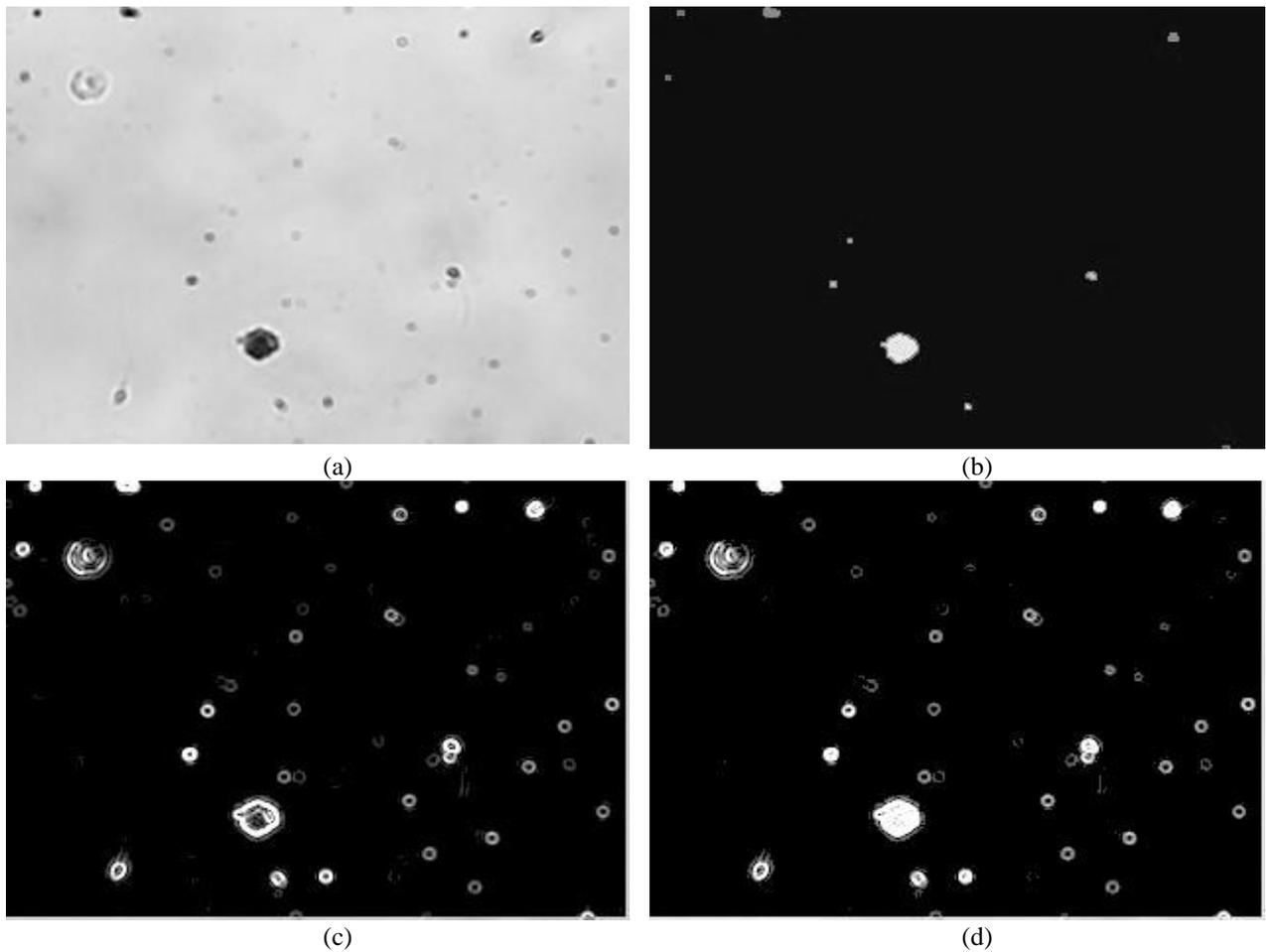
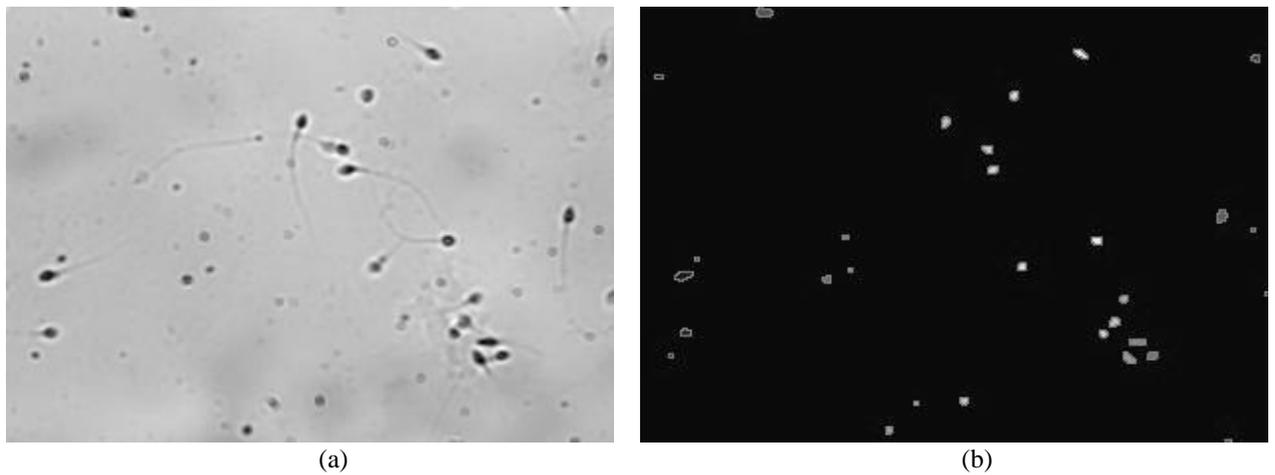


Figure IV. 15 : 2^{ème} exemple de segmentation d'une image de la Data-Base 1 par la technique proposée : (a) image issue du module de prétraitement, (b) image segmentée par 'WaterShed', (c) image segmentée par Sobel, (d) image obtenue par l'opérateur 'OU-logique' entre les images (b) et (c).



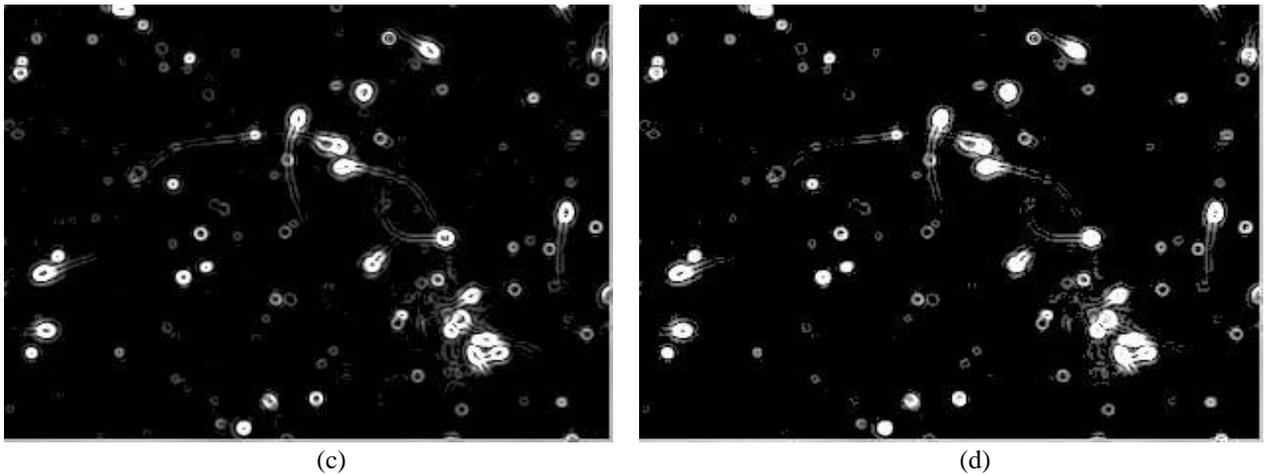


Figure IV. 16 : 3^{ème} exemple de segmentation d'une image de la Data-Base 1 par la technique proposée : (a) image issue du module de prétraitement, (b) image segmentée par 'WaterShed', (c) image segmentée par Sobel, (d) image obtenue par l'opérateur 'OU-logique' entre les images (b) et (c).

La figure IV.17 présente un zoom de 60% sur les images résultantes pour pouvoir mieux visualiser les contours.

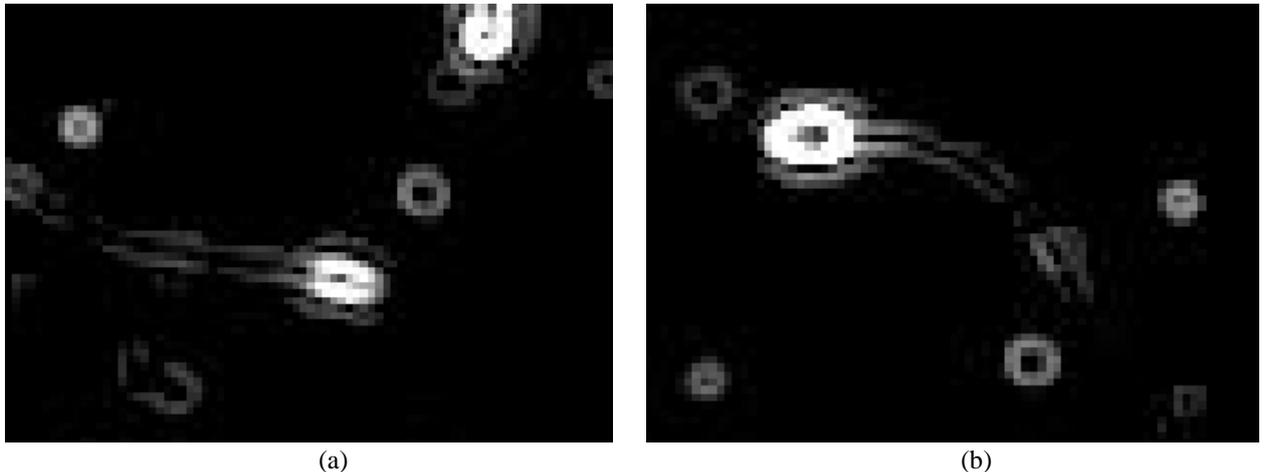


Figure IV.17 : Zoom de 60% Sur les images segmentées par la méthodes proposée.

IV.5 RESULTATS DU MODULE DE RECONNAISSANCE ET EVALUATION DE LA CONCENTRATION

L'image résultante du module de segmentation est de type binaire et contient une grande quantité d'objets d'intérêts (spermatozoides) et de débris, de différentes formes et tailles. Pour pouvoir reconnaître les vrais spermatozoïdes parmi ces objets, il est primordial de choisir une bonne représentation numérique (vecteur de caractéristiques) et de les présenter au classifieur.

Les caractéristiques retenues pour notre module de reconnaissance ont été définies au paragraphe III.2.3 (Chapitre III) et comprennent :

- Le grand axe (ou Major axis) « a » de l'ellipse englobante (en pixels).
- Le petit axe (ou Minor axis) « b » de l'ellipse englobante (en pixels).
- La surface « S » de l'objet segmenté (en pixels).

- Les coordonnées du centroïde de l'objet (X_c et Y_c) dans le repère global de l'image.

L'apprentissage d'un système de classification tel que les SVM repose sur la présentation d'un grand échantillon de données étiquetées selon la classe à qui elles appartiennent appelées « vérité terrain ». Cet étiquetage est généralement réalisé par un ou plusieurs experts humains.

IV.5.1 ETIQUETAGE DE LA VERITE TERRAIN PAR LES EXPERTS :

Pour l'étiquetage de la vérité terrain de nos images microscopiques de sperme, nous avons fait appel à trois biologistes andrologues, experts dans le domaine de l'analyse du sperme humain. Le premier expert est le Docteur N. BENAMAR, andrologue à l'Etablissement Hospitalier (EHU) d'Oran (Algérie), le deuxième et le troisième sont le Docteur A. BOUALEM médecin biologiste et son technicien au laboratoire d'analyses médicales de Saïda (Algérie). Nous tenons à les remercier pour leurs soutiens et aide en acceptant de faire l'évaluation manuelle des paramètres du sperme humain à partir des vidéos de nos bases de données et pour leurs précieuses remarques et suggestions.

Une fois les images segmentées, nous les avons passées dans un procédé d'étiquetage pour que chaque objet présent dans l'image comporte un numéro appelé « étiquette ». La phase d'étiquetage de la vérité terrain par les experts consiste à attribuer le numéro de la classe de destination à chaque objet présent dans l'image.

Nous avons choisi :

- le numéro de classe « 1 » pour désigner la classe de « spermatozoïdes »
- le numéro de classe « 0 » pour désigner la classe de « autres débris ».

Les images segmentées qui ont été présentées aux experts pour étiquetage VT sont toutes issues de la « Data-Base 1 » et le nombre total des objets étiquetés par les experts est 28 121 objets ; 70 % du nombre total a servi comme base d'apprentissage du classifieur et 30% ont servi pour le test.

IV.5.2 LES METRIQUES D'EVALUATION UTILISEES

Pour évaluer notre classifieur, nous avons utilisé les paramètres suivants :

- **TP** (True Positive) : indique le nombre d'échantillons positifs (vrais spermatozoïdes) que le classifieur a correctement reconnus comme positifs.
- **TN** (True Negative) : indique le nombre d'échantillons négatifs (débris) que le classifieur a correctement reconnus comme négatifs.
- **FP** (False Positive) : indique le nombre d'échantillons négatifs que le classifieur a reconnu à tort comme positif.
- **FN** (False Negative) : indique le nombre d'échantillons positifs que le classifieur a reconnu à tort comme négatifs.

De ces 4 paramètres, nous pouvons déduire les métriques suivantes :

- La précision qui est donnée par :

$$Precision = \frac{TP+TN}{TP+TN+FP+FN} \quad (\text{eq. IV.4})$$

- La sensibilité, également connue sous le nom de taux positif réel (TPR) ou rappel, est calculée comme suit :

$$Sensibilité = \frac{TP}{TP+FN} = Rappel \quad (\text{eq. IV.5})$$

- La spécificité est donnée par :

$$Spécificité = \frac{TN}{FP+TN} \quad (\text{eq. IV.6})$$

- Le F-mesure combine le rappel et la précision, elle peut être calculée comme suit :

$$F_{measure} = 2 \times \frac{Precision \times Recall}{Precision + Recall} \quad (\text{eq. IV.7})$$

IV.5.3 INITIALISATION, CONFIGURATION DU CLASSIFIEUR ET RESULTATS

Pour entraîner notre classifieur SVM, nous avons utilisé l'outil « FITCSVM » de MATLAB qui réalise une classification à deux classes (binaire) sur un ensemble de données étiquetées. Après la phase d'étiquetage, nous avons construit une base de données étiquetées comprenant 28120 vecteurs de caractéristiques. Nous avons utilisé 70% de cette base pour l'apprentissage du classifieur et le reste (30%) pour le test.

L'un des paramètres fondamentaux de la fonction « FITCSVM » est le choix du type de noyau. En effet, pour arriver à séparer facilement les classes dans un espace donné, le SVM utilise une projection dans un espace augmenté en utilisant la notion de noyau. Pour le choix du noyau optimal, nous avons testé les trois noyaux : RBF (Radial Basis Function), le noyau linéaire et le noyau polynômial. Deux autres paramètres ont un impact majeur sur les performances et doivent être optimisés selon le contexte précis de l'apprentissage. Pour ce faire, nous avons fait une recherche de la configuration optimale en essayant de multiples combinaisons de paramètres. Les deux paramètres à optimiser sont le coût de l'erreur « C » et la variance du noyau RBF « gamma ». Étant donné le faible nombre de paramètres et la nécessité de couvrir l'espace des possibilités, la recherche a été effectuée dans une grille de recherche (Grid Search). Le meilleur résultat en termes de taux de bonne classification est retenu.

Pour le noyau RBF, les paramètres de réglage optimaux sont: Gamma =0.0065535 et C =8.1535. Lors des tests, la méthode de validation croisée (cross-validation) a été adoptée et répétée trois fois

pour chaque 'Cross' de 5, 10 et 15. La figure IV.18 montre les résultats de la précision de classification pour différents noyaux et différentes valeurs du 'Cross'.

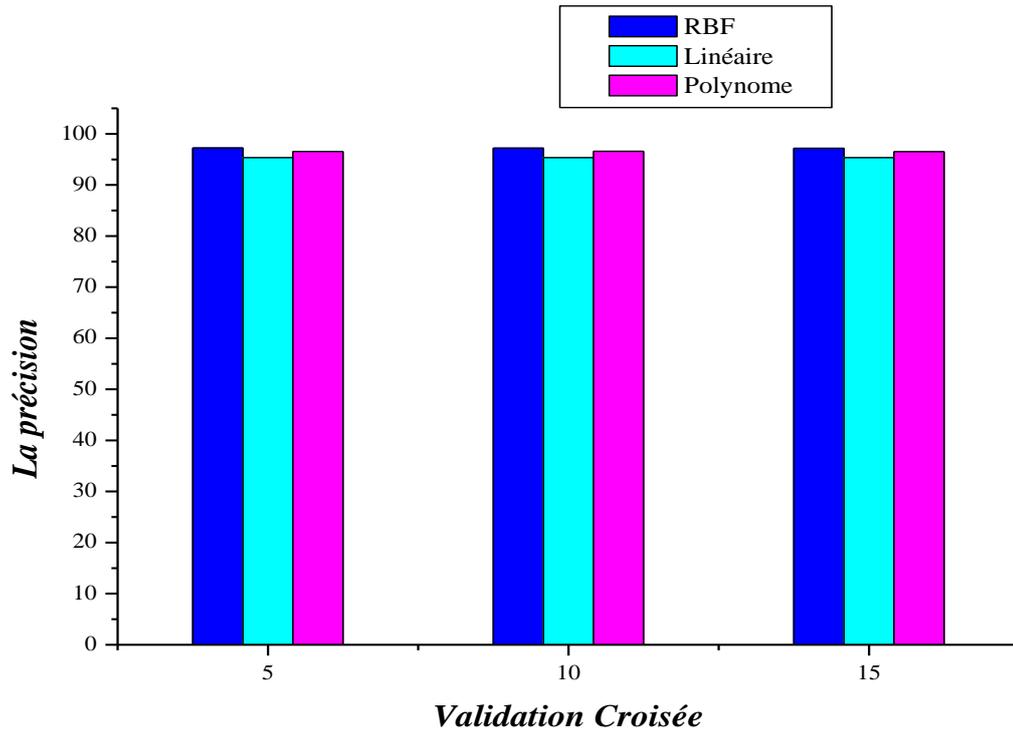


Figure IV.18 : Comparaison entre les valeurs de la précision de classification pour différents noyaux et différentes valeurs du Cross

Après analyse de la figure IV.16, nous pouvons conclure que le noyau RBF donne la meilleure précision. A titre indicatif, pour une cross-validation Cross=15, les valeurs sont :

- Pour le noyau RBF, la précision est de 97.22 % ;
- Pour le noyau polynomial, la précision est de 96,56.
- Pour le noyau linéaire, la précision est de 95.35% ;

Une autre manière graphique d'évaluation d'un classifieur est la courbe des caractéristiques de fonctionnement du récepteur, appelée ROC (Receiver Operating Characteristic). Cette courbe est utilisée pour évaluer la performance du classificateur (voir figure IV.19). La performance s'améliore au fur et à mesure que la courbe se rapproche du coin supérieur gauche du graphique.

La surface sous la courbe ROC, appelée AUC, est considérée comme la méthode standard pour évaluer l'exactitude des modèles de classification. Cela évite la subjectivité supposée dans le processus de sélection des seuils, elle mesure mieux que la précision pour la plupart des algorithmes de classification. Pour la métrique AUC, les valeurs pour les noyaux RBF, Linéaire et polynôme c'étaient 0.9978, 0.9653 et 0.9877 respectivement. D'après les expériences et les résultats précédents, on peut observer que les classificateurs SVM donnent une excellente précision de prédiction, le noyau RBF étant plus précis que les autres en termes de précision et de AUC.

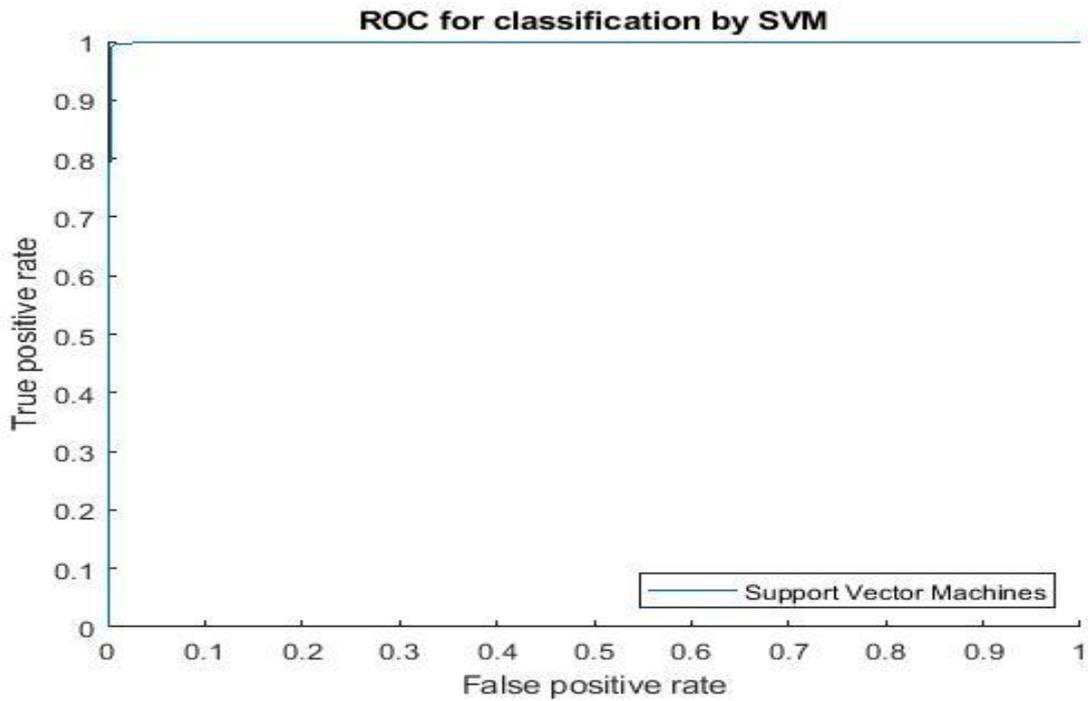


Figure IV.19 : Courbe ROC obtenue pour le classifieur SVM utilisé avec un noyau de type RBF

Lors de l'exploitation de notre module de reconnaissance, nous avons présenté à son entrée des images qui n'ont pas été utilisées lors de l'apprentissage. Nous donnons dans les figures IV.20 et IV.21 les résultats de reconnaissance des spermatozoïdes pour 2 images prises au hasard.

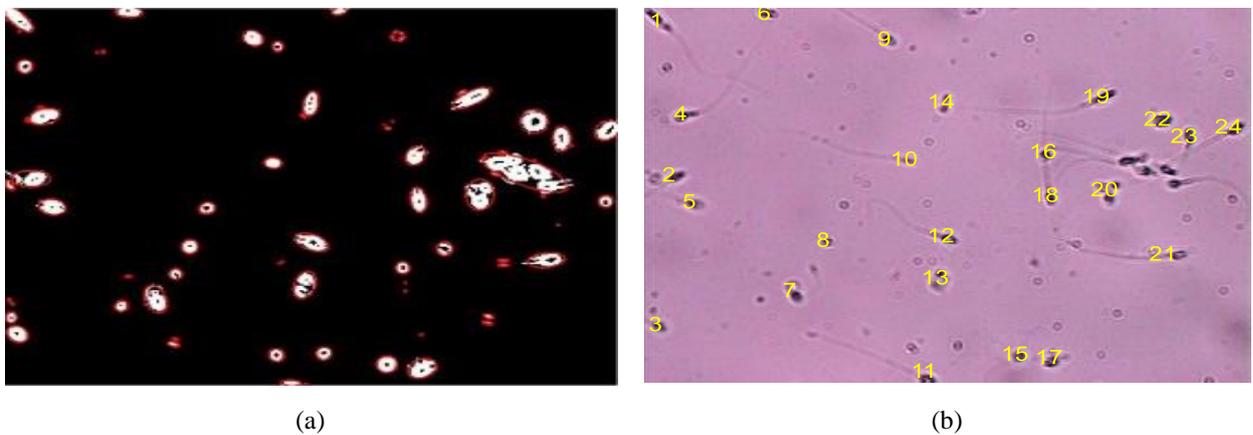


Figure IV.20 : Phase de reconnaissance des spermatozoïdes – Exemple d'image n°1:
 (a) Image issue du module de segmentation et donnée comme entrée du classifieur
 (b) Reconnaissance et numérotation des vrais spermatozoïdes.

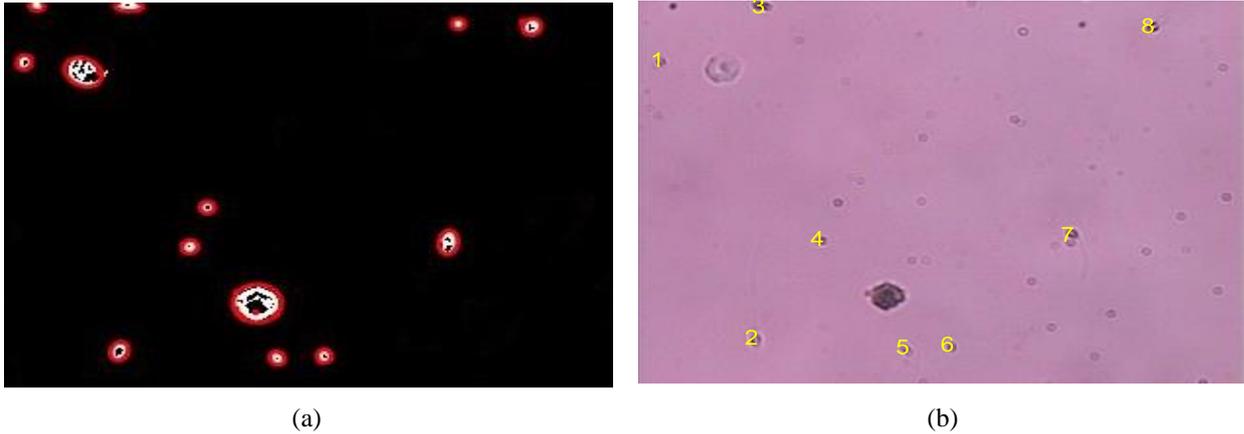


Figure IV.21 : Phase de reconnaissance des spermatozoïdes – Exemple d’image n°2:
 (a) Image issue du module de segmentation et donnée comme entrée du classifieur
 (b) Reconnaissance et numérotation des vrais spermatozoïdes.

IV.5.4 ESTIMATION DE LA VALEUR DE LA CONCENTRATION DU SPERME

La concentration d’un sperme consiste à calculer le nombre des spermatozoïdes dans un 1 ml^3 d’éjaculat. Le volume de la grille de forme carrée est de « $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} \times 10 \mu$ » (côté \times côté \times hauteur) soit 0.01 mm^3 (c.à.d. 0.1 ml). Si l’on compte le nombre dans les 10 grilles dans chambre de comptage, le nombre de spermatozoïdes comptés correspond au nombre de millions des spermatozoïdes /ml.

Pour rappel, les valeurs de concentration normales, telles que précisées par l’OMS (OMS ,2010), sont :

- Soit Concentration ≥ 20 million/ml
- Soit Concentration ≥ 40 million / éjaculat.

Dans le tableau IV.6, nous avons dressé le nombre de spermatozoïdes comptés manuellement par les trois experts andrologues pour 8 séquences vidéo issues de la base « Data-Base 1 » ainsi que les résultats fournis automatiquement par notre système CASA.

Tableau IV.6. Nombre de spermatozoïdes comptés manuellement par les trois experts (méthode manuelle) et automatiquement par notre système CASA.

| Vidéos # | Nombre de spermatozoïdes – Méthode Manuelle | | | | | Nombre de spermatozoïdes - Méthode Automatique Obtenu par notre CASA |
|-----------|---|----------------|----------------|------------------------------|--------------------------|--|
| | Opérateur 1 | Opérateur 2 | Opérateur 3 | Valeur Moyenne μc | Ecart-type σc | |
| Vidéo # 1 | 02 | 03 | 03 | 3 | 1 | 2 |
| Vidéo # 2 | 18 | 17 | 16 | 17 | 1 | 17 |
| Vidéo # 3 | 04 | 05 | 06 | 5 | 1 | 5 |
| Vidéo # 4 | 04 | 04 | 03 | 4 | 1 | 3 |
| Vidéo # 5 | 05 | 04 | 04 | 4 | 1 | 3 |
| Vidéo # 6 | 13 | 17 | 15 | 15 | 2 | 15 |
| Vidéo # 7 | 13 | 15 | 16 | 15 | 2 | 16 |
| Vidéo # 8 | 01 | 02 | 02 | 2 | 1 | 3 |

La figure IV.22 traduit graphiquement les valeurs illustrées dans le tableau IV.5 concernant les résultats d'évaluation du nombre de spermatozoïdes effectuée par les trois opérateurs humains ainsi que ceux obtenus par le CASA proposé.

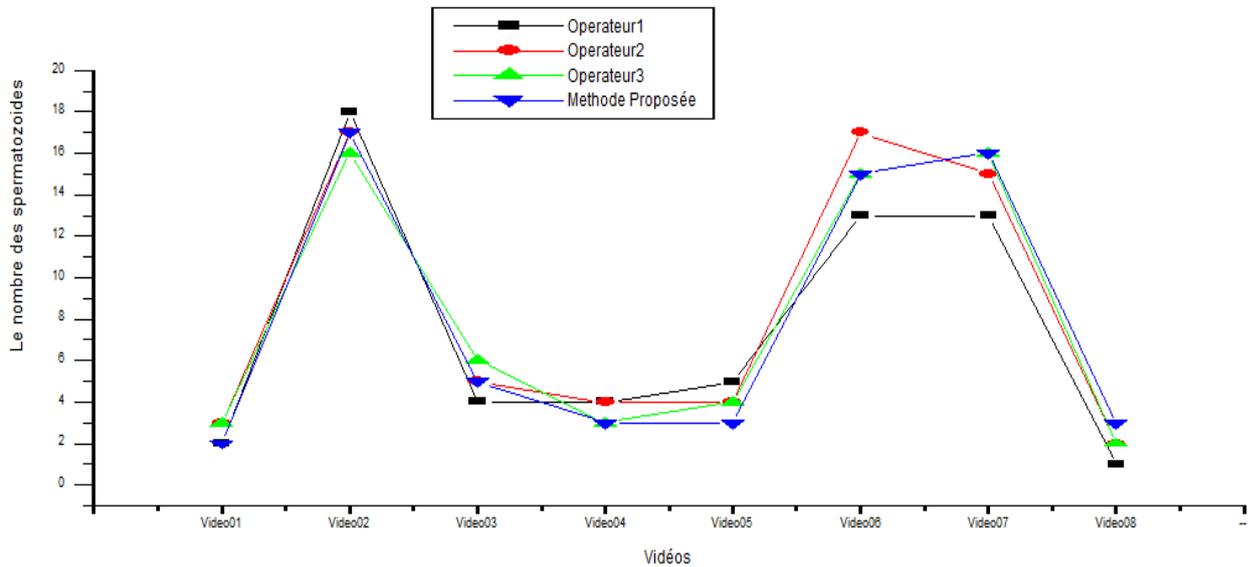


Figure IV.22 : Représentation graphique des valeurs de nombre de spermatozoïdes obtenues par les trois experts (méthode manuelle) et du système proposé (méthode automatique).

Il est clair que la valeur précise du nombre de spermatozoïdes dans les différentes séquences vidéo est inconnue et que les valeurs estimées par les experts humains sont approximatives et subjectives. Afin de mesurer la précision de notre système, nous avons calculé la moyenne « μ_C » et l'écart-type « σ_C » des valeurs proposées par les trois experts humains auxquelles nous avons comparé la valeur mesurée par notre système.

Il est facile de remarquer que toutes les valeurs fournies automatiquement par notre système sont à l'intérieur de l'intervalle $\mu_C \pm \sigma_C$ ce qui confirme sa robustesse et sa précision.

IV.6 RESULTATS DU MODULE D'EVALUATION DE LA MOTILITE ET DU SUIVI

Habituellement, le pourcentage des spermatozoïdes mobiles est mesuré au cours d'une analyse standard du sperme effectuée visuellement par des techniciens andrologues. On définit alors pour chaque spermatozoïde mobile les paramètres de motilité dynamique VCL, VSL, LIN et ALH selon sa trajectoire de nage (voir paragraphe III.2.5.3 du chapitre III).

De même que pour la mesure de la concentration, nous avons demandé aux trois experts humains de mesurer la motilité et ce pour les 8 séquences vidéos de la base de données « Data-base1 » (méthode manuelle), ensuite, nous avons évalué la motilité à partir de ces 8 séquences à

l'aide de notre système CASA (méthode automatique). Dans ce qui suit, nous montrons les résultats de cette évaluation.

IV.6.1 RESULTATS DE L'ÉVALUATION DE LA MOTILITE ET DU SUIVI

Le tableau IV.7 présente les résultats d'évaluation du nombre des spermatozoïdes mobiles dans les 8 séquences vidéo à l'aide de notre système CASA ainsi qu'avec la méthode manuelle.

Tableau IV.7. Valeurs de motilité obtenues par les trois experts (méthode manuelle) et par le système CASA proposé (méthode automatique)

| Vidéo # | Valeur de la motilité Méthode Manuelle | | | | | Valeur de la motilité Méthode Automatique (Système CASA proposé) |
|-----------|---|----------------|----------------|------------------------------|-------------------------------------|--|
| | Opérateur 1 | Opérateur 2 | Opérateur 3 | Valeur moyenne μ_m | Standard Déviation σ_m | |
| Vidéo # 1 | 01 | 02 | 01 | 1 | 1 | 1 |
| Vidéo # 2 | 05 | 04 | 06 | 5 | 1 | 6 |
| Vidéo # 3 | 03 | 04 | 05 | 4 | 1 | 4 |
| Vidéo # 4 | 01 | 01 | 03 | 2 | 1 | 1 |
| Vidéo # 5 | 03 | 03 | 03 | 3 | 0 | 3 |
| Vidéo # 6 | 07 | 13 | 12 | 11 | 3 | 12 |
| Vidéo # 7 | 08 | 07 | 10 | 8 | 2 | 9 |
| Vidéo # 8 | 01 | 01 | 01 | 1 | 0 | 01 |

L'évaluation automatique de la motilité par notre système CASA est réalisée selon l'algorithme de la soustraction inter-frames appliquée à 3 images successives de la même séquence vidéo comme représenté par la figure III.13 (Chapitre III). Les résultats pratiques expérimentaux de ce module sont illustrés dans la figure IV.23. Dans cette figure, les trois images (a), (b) et (c) montrent une séquence de trois images successives I_{k-1} , I_k , et I_{k+1} de la même vidéo. Les deux images (d) et (e) montrent les images différentielles d_k et d_{k+1} . L'image résultante (f) représente l'image de la motilité. Cette dernière contient seulement les spermatozoïdes mobiles en couleur blanche et tout le reste est de couleur noire (fond et spermatozoïdes immobiles). Le taux de motilité est obtenu en étiquetant et en comptant les blobs blancs.

La figure IV.24 traduit graphiquement les valeurs illustrées dans le tableau IV.7 concernant les résultats d'évaluation du nombre de spermatozoïdes mobiles (motilité) effectuée par les trois opérateurs humains ainsi que ceux obtenus par le CASA proposé.

Comme dans le cas de la concentration mesurée manuellement, il est clair que la valeur précise du nombre de spermatozoïdes mobiles dans les différentes séquences vidéo est inconnue et que les valeurs estimées par les experts humains sont approximatives et subjectives. Afin de mesurer la précision de notre système, nous avons calculé la moyenne « μ_m » et l'écart-type « σ_m » des valeurs proposées par les 3 experts humains auxquelles nous avons comparé la valeur mesurée par notre système. Il est facile de remarquer que toutes les valeurs fournies automatiquement par notre système sont à l'intérieur de l'intervalle $\mu_m \pm \sigma_m$ ce qui confirme sa robustesse et sa précision.

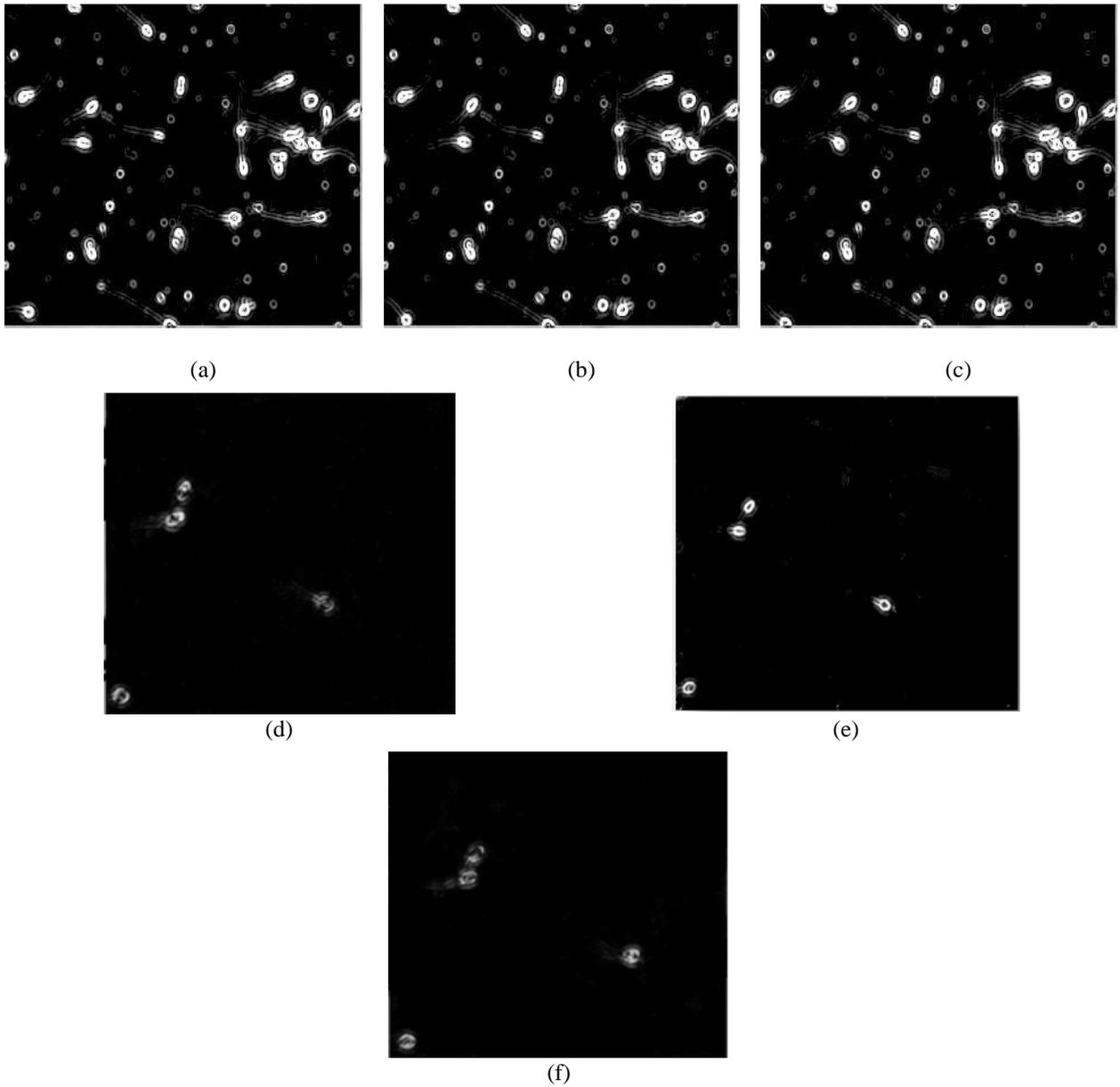


Figure IV.23 : Estimation de la motilité ; ((a), (b) et (c) sont les 3 images successives I_{k-1} , I_k , et I_{k+1} (d) et (e) sont les images différentielles d_k et d_{k+1} (f) est l'image de la motilité.

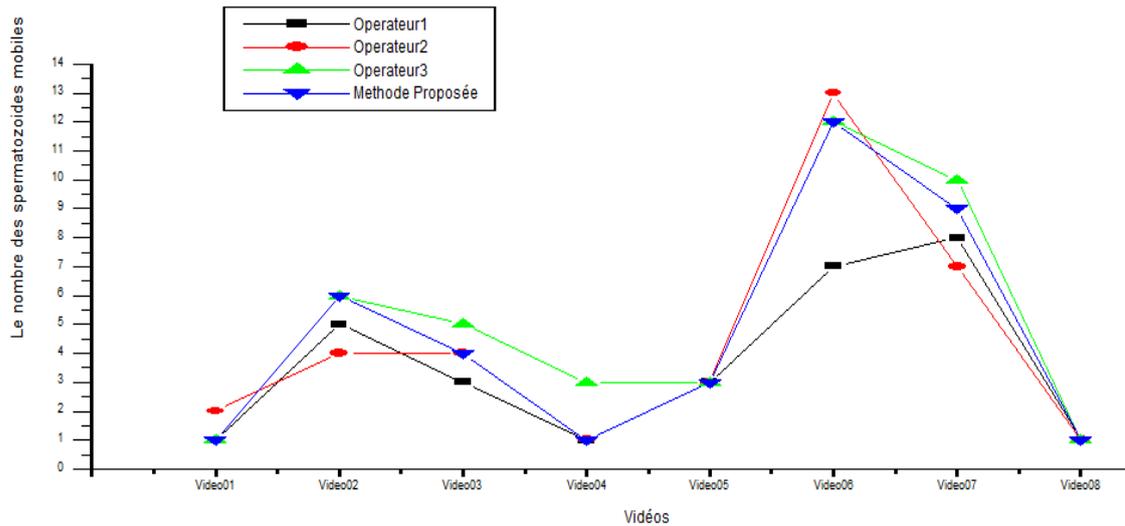


Figure IV.24 : Représentation graphique des valeurs de nombre de spermatozoïdes mobiles obtenues par les trois experts (méthode manuelle) et du système proposé (méthode automatique).

Dans cette partie, nous allons présenter les résultats des simulations de poursuite des trajectoires d'objets en mouvement. La poursuite se fait en utilisant le filtre de Kalman. Une fois les images binaires de motilité obtenues pour toute la séquence vidéo, nous avons injecté les coordonnées du centre de masse (X_c, Y_c) de chaque spermatozoïde mobile de chaque image dans le processus de tracking par filtre de Kalman.

Avant de commencer le processus récurant du filtre, il est important de spécifier le vecteur d'état estimé initial $X(0/0)$ et sa covariance $P(0/0)$. Pour notre cas :

Le vecteur d'état de l'objet, il est composé de :

- La position d'objet.
- La vitesse supposée constante.
- L'accélération supposée nulle au départ.

La durée de trajectoire est de 25 trames d'images prises de trois séquences différentes

La mesure est composée seulement de la position (centre de masse) de l'objet mobile.

Selon le besoin, la nécessité d'utiliser le filtre de Kalman impose le choix du modèle en fonction de la nature du mouvement de l'objet. Ce modèle est décrit par un system linéaire composée d'une équation d'état et une équation de mesure. On suppose un modèle du second ordre pour un objet se déplaçant à une vitesse constante.

La figure IV.25 présente un exemple d'application du filtre de Kalman sur la séquence scène. A titre d'exemple, nous avons présenté six (06) différentes images montrant les trajectoires de nage des spermatozoïdes ayant quatre types de mouvement. Ici, il est important de rappeler qu'un opérateur humain ne peut en aucune manière suivre visuellement les trajectoires de nage et ce même pour un seul spermatozoïde d'où l'intérêt primordial du système CASA pour ce genre d'analyse.

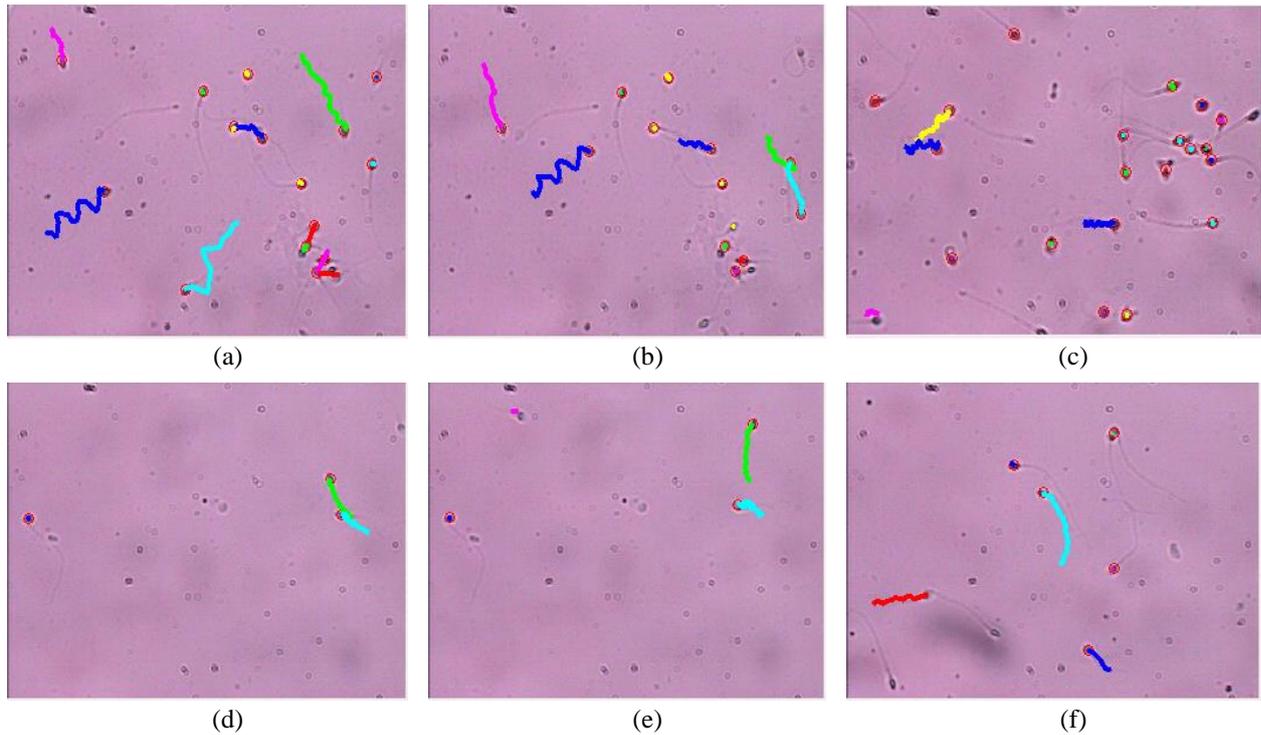


Figure IV.25 : Exemple de six (06) images de traçage de trajectoire des spermatozoïdes

IV.7 EVALUATION DU TEMPS DE TRAITEMENT DE NOTRE CASA

Comme tout système destiné à remplacer le travail manuel par un processus automatique équivalent, il est nécessaire de faire l'évaluation et la comparaison des temps de traitement.

Dans le tableau IV.8 ci-dessous, nous avons dressé le temps de traitement (en secondes) pour chacun des cinq modules que comporte notre système. Ajouté à cela, nous avons mis dans la première colonne le temps que nécessite une analyse manuelle par un technicien andrologue. On peut facilement remarquer que le temps nécessaire à l'analyse automatique du sperme (utilisation du CASA) est de loin très faible par rapport à l'analyse manuelle.

Tableau IV.8. Valeur du temps de traitement (en secondes) pour chacun des cinq (05) modules que comporte notre système CASA / Temps d'analyse manuelle

| Analyse manuelle par un Opérateur Humain | Analyse automatique à l'aide du système CASA proposé | | | | |
|--|--|------------------------|--|-----------------------------------|-------------------------------|
| | Phase de Prétraitement* | Phase de Segmentation* | Phase de reconnaissance et d'estimation de la Concentration* | Phase d'estimation de la Motilité | Phase du suivi de trajectoire |
| 900 à 1200 (15 à 20 minutes) | 0.185021 sec | 0.224436 sec | 0.348265 sec | 5.601933 sec | 7.706371 sec |

* : temps estimé par frame

IV.8 CONCLUSION

Dans ce chapitre, nous avons détaillé l'aspect pratique de notre projet de thèse en montrant les outils utilisés ainsi que les résultats d'implémentation et d'expérimentation pratiques de notre système CASA :

- Nous avons commencé par présenter la plateforme expérimentale ainsi que les bases de données sur lesquelles nous avons testé nos algorithmes.
- Nous avons ensuite présenté les résultats d'implémentation et d'expérimentation du module de prétraitement. Nous y avons testé une variété de techniques de prétraitement des images microscopiques. Cette étape nous a permis de choisir la méthode du filtrage gaussien suivie par l'application de la transformée en ondelettes discrètes. Ce sont celles qui ont donné les meilleures valeurs de PSNR.
- En troisième étape, nous avons implémenté le module de segmentation des images microscopiques. Nous avons expérimenté une première technique de segmentation dénommée « Watershed » qui consiste à faire une partition de l'image en régions connexes. Cette dernière nous a permis de détecter seulement les gros blobs de pixels telles que les gros débris, les têtes des spermatozoïdes et leurs parties intermédiaires sans détecter leurs queues. Nous avons ensuite testé une seconde technique appelée détecteur de contours par masque de Sobel. Cette dernière nous a permis de détecter en plus des contours de tous les blobs, les queues des spermatozoïdes. Nous avons alors opté pour l'hybridation des deux techniques de segmentation pour détecter la totalité des membres des spermatozoïdes (tête + mid-piece + queue). Cette hybridation consiste à appliquer un « OU-Logique » entre les deux images segmentées issues des deux techniques de segmentation citées plus haut.
- En quatrième étape, nous avons implémenté le module de reconnaissance des spermatozoïdes et d'évaluation de la concentration. Nous avons opté pour le classifieur SVM qui nous a permis d'atteindre une précision de classification supérieure à 97%. Après l'étiquetage des vrais spermatozoïdes, nous avons pu évaluer la concentration du sperme. Les résultats d'évaluation de concentration obtenus automatiquement (par notre système CASA) ont été très proches des valeurs obtenues par l'évaluation manuelle (par des experts humains).
- En cinquième étape, nous avons implémenté et testé le module de mesure de la motilité et des paramètres cinétiques. On a implémenté l'algorithme de détection de mouvement basé sur la soustraction de 3 images successives et le filtre de kalman. Les résultats de motilité obtenus par ce module sont très proches des valeurs obtenues par évaluation manuelle (par des experts humains).

A l'issue de ce chapitre, et vue les résultats obtenus qui sont très encourageants, nous pouvons affirmer que le système CASA réalisé au cours de cette thèse de doctorat remplit pleinement son rôle d'analyseur automatique de sperme humain. Il nous a permis d'atteindre la même précision qu'un opérateur humain en un temps record.

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de cette thèse de doctorat est d'étudier puis de réaliser un système d'analyse de sperme assisté par ordinateur (Computer Assisted Semen Analysis - CASA) destiné exclusivement à l'analyse du sperme humain en faisant une évaluation automatique de ses paramètres les plus pertinents qui sont la concentration, la motilité ainsi que les paramètres cinétiques des spermatozoïdes.

L'idée d'automatiser cette procédure, jusque-là manuelle, nous a été venue de manière très logique du fait de la grande variabilité et subjectivité des résultats fournis par différents laboratoires pour le même échantillon de sperme. La méthode manuelle d'analyse du sperme dans les cliniques d'infertilité et les laboratoires est laborieuse : le nombre et la qualité des spermatozoïdes sont souvent visuellement évalués par des techniciens en examinant un échantillon de sperme d'un patient au microscope.

Afin de minimiser la variabilité des résultats des tests d'un laboratoire à l'autre, des protocoles standards ont été élaborés pour rendre cette routine plus objective et reproductible. Le plus notable de ces protocoles a été dicté par le manuel de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2010) pour l'examen et le traitement du sperme humain, mais malgré la disponibilité et le suivi rigoureux de tels protocoles, les différences entre les résultats d'évaluation persistent d'un laboratoire à l'autre.

Pour réaliser notre système CASA, nous avons suivi l'architecture générique d'un système de reconnaissance de formes (RdF) en vision artificielle qui se compose, entre autres :

- d'une première étape de prétraitement de l'image microscopique brute,
- d'une deuxième étape de segmentation qui permet de séparer les objets d'intérêts du fond de l'image ;
- d'une troisième étape de reconnaissance de forme pour reconnaître les vrais spermatozoïdes parmi tous les blobs de pixels ;
- d'une quatrième étape de mesure de la motilité qui consiste à faire une séparation entre les spermatozoïdes immobiles et ceux mobiles ;
- et enfin l'étape de tracking des spermatozoïdes mobiles pour évaluer la forme de trajectoire et le type de mouvement.

Au cours du premier chapitre, nous avons présenté des généralités sur l'infertilité masculine et la morphologie du spermatozoïde humain. Nous avons aussi donné un bref aperçu sur les méthodes d'analyse manuelle du sperme dans un laboratoire puis nous avons introduit le principe général de l'analyse automatique du sperme telle que réalisée par un système CASA (analyse de sperme assistée par ordinateur).

Dans le deuxième chapitre, nous avons commencé par étaler une présentation chronologique du développement des systèmes CASA depuis leur création dans les années 80 jusqu'à présent. Nous avons aussi décrit quelques systèmes CASA commerciaux en citant leurs limites. Dans une deuxième partie, nous avons présenté un état de l'art sur les travaux des recherches publiés sur la détection automatique des spermatozoïdes et l'estimation de leurs paramètres à partir d'une séquence d'images microscopique.

Le troisième chapitre a été dédié à la présentation de l'architecture de notre système CASA. Nous y avons développé chacun des modules qui le constituent. Dans le premier module, appelé module de prétraitement, nous avons commencé par justifier la conversion de l'espace des couleurs initial (RVB) vers l'espace YCbCr. Pour améliorer la robustesse du CASA, l'étape la plus importante dans ce système est la détection automatique des spermatozoïdes. Elle se divise en deux parties : la première s'intéresse à l'amélioration des images et consiste à réparer l'apparence d'image brute par l'amélioration de son contraste et l'accentuation de certaines caractéristiques de celle-ci afin de faciliter la suite du traitement et avoir une analyse plus précise de l'image. L'utilisation du filtre gaussien suivi par les ondelettes améliore les images avec conservation du contenu. Ces résultats sont prouvés selon les paramètres SSIM et PSNR avec l'hypothèse de l'existence des deux types de bruits le chatoiement et le mixte Poisson-Gaussien. Pour la deuxième partie, nous avons présenté la partie cruciale de notre système CASA qui est la segmentation : on s'est basé sur la détection de toutes les parties d'un spermatozoïde et surtout la queue qui a un contraste faible par rapport à la tête. Nous avons hybridé deux techniques de segmentation, une à base de contours réalisée à l'aide du filtre de Sobel et l'autre à base de régions réalisée par l'algorithme de partage des eaux (Watershed). Pour l'évaluation de la concentration, nous nous sommes basés sur une hypothèse adoptée par plusieurs chercheurs dans le domaine qui est la grande ressemblance de la tête d'un spermatozoïde avec une ellipse parfaite. Nous avons choisi comme caractéristiques invariantes le grand axe, le petit axe et la surface de l'ellipse et nous les avons utilisés comme vecteurs de caractéristiques à l'entrée d'un classificateur SVM afin de classifier et reconnaître le vrai spermatozoïde parmi les impuretés et les débris. La motilité et les paramètres cinétiques sont ensuite estimés par une méthode de soustraction de fond suivie par un filtre de kalman.

Le dernier chapitre a été consacré à l'implémentation et à l'expérimentation de l'approche proposée. Dans une première partie, nous avons commencé par présenter notre plate-forme informatique d'implémentation ainsi que les deux bases de données des images microscopiques de sperme humain qui ont été utilisées lors des tests expérimentaux. Dans la seconde partie, nous y avons présenté les résultats, leur discussion et leur interprétation. Pour l'évaluation de chaque module, nous avons commencé par choisir une métrique reconnue et standard.

Comme synthèse globale des résultats obtenus par notre système CASA, nous pouvons rappeler qu'après avoir choisi les bonnes techniques de prétraitement et de segmentation, le classifieur SVM du module de reconnaissance nous a permis d'atteindre une précision supérieure à 97%.

Lors de l'exploitation de notre CASA sur des séquences vidéo de sperme, les résultats de concentration et de motilité étaient toutes comparables aux valeurs données par l'évaluation manuelle faite par des experts humains.

En conclusion, les résultats obtenus sont très encourageants et qui nous pouvons affirmer que le système CASA réalisé au cours de cette thèse de doctorat remplit pleinement son rôle d'analyseur automatique de sperme humain. Il nous a permis d'atteindre la même précision qu'un opérateur humain en un temps record.

Afin de d'améliorer les performances de notre système, nous envisageons d'apporter des améliorations à chacun des modules qui le constituent. Pour le module de prétraitement, nous suggérons de standardiser l'étape de prétraitement pour tous types d'images microscopiques capturées par n'importe quel microscope. Au niveau de l'étape de classification, nous envisageons l'utilisation du « deep-learning » mais ceci nécessitera sans doute la disponibilité de grande quantité d'images d'apprentissage. Nous suggérons aussi l'ajout d'un autre module pour analyser la morphologie des spermatozoïdes. Sur le plan clinique, nous envisageons d'appliquer l'approche proposés sur une base de données collectée au niveau local (Laboratoires d'analyses médicales en ALGERIE) et promouvoir l'utilisation de notre système CASA au niveau local et national.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (Abbiramy et al., 2010) ABBIRAMY, V. S., SHANTHI, V., et ALLIDURAI, Charanya. Spermatozoa detection, counting and tracking in video streams to detect asthenozoospermia. In : 2010 International Conference on Signal and Image Processing. IEEE, 2010. p. 265-270.
- (Abbot et al.,1979) ABBOTT, John G. et THURSTONE, F. L. Acoustic speckle: Theory and experimental analysis. *Ultrasonic imaging*, 1979, vol. 1, no 4, p. 303-324.
- (Abdullah-Al-Wadud et al., 2007) ABDULLAH-AL-WADUD, Mohammad, KABIR, Md Hasanul, DEWAN, M. Ali Akber, et al. A dynamic histogram equalization for image contrast enhancement. *IEEE Transactions on Consumer Electronics*, 2007, vol. 53, no 2, p. 593-600.
- (Acosta et Kruger. 1996) ACOSTA, Anibal A. et KRUGER, Thunus F. (ed.). *Human spermatozoa in assisted reproduction*. Taylor & Francis, 1996.
- (Agarwal et al. 2015) AGARWAL, Ashok, MULGUND, Aditi, HAMADA, Alaa, *et al.* A unique view on male infertility around the globe. *Reproductive biology and endocrinology*, 2015, vol. 13, no 1, p. 37.
- (Akashi et al., 2010) AKASHI, Takuya, WATANABE, Akihiko, KOMIYA, Akira, et al. Evaluation of the sperm motility analyzer system (SMAS) for the assessment of sperm quality in infertile men. *Systems biology in reproductive medicine*, 2010, vol. 56, no 6, p. 473-477.
- (Albert, 2005) ALBERT, Martine. Modalités techniques de récupération et de congélation des spermatozoïdes. *Andrologie*, 2005, vol. 15, no 2, p. 223-226.
- (Alfred et al.,2001) ANWANDER, Alfred. Segmentation d'images couleur par un opérateur gradient vectoriel multiéchelle et contour actif: application à la quantification des phases minéralogiques du clinker de ciment. 2001. Thèse de doctorat. Lyon, INSA.

- (Amann et al.,2004) AMANN, Rupert P. et KATZ, David F. Andrology lab corner*: Reflections on casa after 25 years. *Journal of andrology*, 2004, vol. 25, no 3, p. 317-325.
- (Amann et al.,2014) AMANN, Rupert P. et WABERSKI, Dagmar. Computer-assisted sperm analysis (CASA): capabilities and potential developments. *Theriogenology*, 2014, vol. 81, no 1, p. 5-17. e3.
- (Araoudiou et al., 2018) ARAOUDIYOU, Zahira et AIT SAÏD, Zina. Etude des caractéristiques de la semence des lapins de la souche synthétique dans un élevage de Tigzirt. 2018. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri.
- (Arkanfari et al., 2018) ARKANFARI, Reza et SHOJAEDINI, Seyed Vahab. A New Method for Detecting Sperms in Microscopy Images: Combination of Zernike Moments and Spatial Processing. *Iranian Journal of Medical Physics*, 2018, vol. 15, no 4, p. 215-221.
- (Auger et al. 2000) AUGER, J., EUSTACHE, F., DUCOT, B., *et al.* Intra-and inter-individual variability in human sperm concentration, motility and vitality assessment during a workshop involving ten laboratories. *Human Reproduction*, 2000, vol. 15, no 11, p. 2360-2368.
- (Bailey, 2007) Bailey E, Fenning N, Chamberlain S, Devlin L, Hopkisson J, Tomlinson M. Validation of Sperm Counting Methods Using Limits of Agreement. *J Androl.* 2007 May-Jun;28(3):364–73.
- (Basoeki et al.,2016) BASOEKI, Hario Baskoro, WIBAWA, Adhi Dharma, et PURNAMA, I. Ketut Eddy. Improving sperms detection and counting using single Gaussian background subtraction. In : 2016 International Seminar on Application for Technology of Information and Communication (ISemantic). IEEE, 2016. p. 295-299.
- (Belhadj et al.,2018) BELHADJ, Sabrina. Détection automatique des crises d'épilepsie.2018. Thèse de doctorat. USTO.
- (Benkhelifa Mariem, 2013) BENKHELIFA Mariem. *Identification et caractérisation de gènes impliqués dans l'infertilité masculine*. 2013. Thèse de doctorat.
- (Bijar et al., 2012) BIJAR, Ahmad, PE, Antonio, MIKAEILI, Mohammad, et al. Fully automatic identification and discrimination of sperm's parts in microscopic images of stained human semen smear. 2012.
- (Bio-equip, 2020) Système (CFT-9200). Consulté le 21/08/2020. <https://bio-equip.cn/enshow1equip.asp?equipid=3794>, 2020.
- (Blanchard et al, 2011) BLANCHARD, M., HAGUENOER, K., APERT, A., et al. Sperm morphology assessment using David's classification: time to switch to strict criteria? Prospective comparative analysis in a selected IVF population. *International journal of andrology*, 2011, vol. 34, no 2, p. 145-152.
- (Boncelet et al.,2005) BONCELET, Charles et BOVIK, Alan C. Image Noise Models, Handbook of Image and Video Processing. 2005.
- (Bouzekrini, 2012) Bouzekrini M. Congrès international de fertilité et de contraception : Reprise de la natalité en Algérie ,Safex Alger. 2012.
- (Bréart et al. 1995) BRÉART, Gerard, *et al.* Assisted reproduction vigilance. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 1995, vol. 179, no 8, p. 1759-1764.

- (Brooks et al. 2004) KEEL, Brooks A. How reliable are results from the semen analysis?. *Fertility and sterility*, 2004, vol. 82, no 1, p. 41-44.
- (Brzakowski et al. 2009) BRZAKOWSKI, Melani, LOURDEL, E., CABRY, R., et al. Épidémiologie du couple infertile. *Journal de gynécologie obstétrique et Biologie de la reproduction*, 2009, vol. 38, p. F3-F7.
- (Cardona. 2010) MAYA, W. Cardona. World Health Organization manual for the processing of human semen-2010. *Actas Urologicas Espanolas (English Edition)*, 2010, vol. 7, no 34, p. 577-578.
- (Carillo et al.,2007) CARRILLO, Henry, VILLARREAL, Jorge, SOTAQUIRA, Miguel, et al. A computer aided tool for the assessment of human sperm morphology. In : 2007 IEEE 7th International Symposium on BioInformatics and BioEngineering. IEEE, 2007. p. 1152-1157.
- (Castleman et al.,1996) CASTLEMAN, Keeneth R. *Digital Image Processing* Englewood Cliffs. Prentice-Hall, Inc, 1996, vol. 1, no 996, p. 475-478.
- (Centola, 1996) CENTOLA, G. M. Comparison of manual microscopic and computer-assisted methods for analysis of sperm count and motility. *Archives of andrology*, 1996, vol. 36, no 1, p. 1-7.
- (Chen et al.,1994) CHEN, Haiguang, AVRAM, Hector, KAUFMAN, Leon, et al. T2 restoration and noise suppression of hybrid MR images using Wiener and linear prediction techniques. *IEEE transactions on medical imaging*, 1994, vol. 13, no 4, p. 667-676.
- (Chong et al.,1983) CHONG, AUGUSTO P., WALTERS, CLIFFORD A., et WEINRIEB, SHELLEY A. The Neglected Laboratory Test The Semen Analysis. *Journal of andrology*, 1983, vol. 4, no 4, p. 280-282.
- (Cooper et al., 2010) COOPER, Trevor G., NOONAN, Elizabeth, VON ECKARDSTEIN, Sigrid, et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Human reproduction update*, 2010, vol. 16, no 3, p. 231-245.
- (Davies ER et al.,2012) DAVIES, E. Roy. *Computer and machine vision: theory, algorithms, practicalities*. Academic Press, 2012.
- (Davis et al.,1975) DAVIS, Larry S. A survey of edge detection techniques. *Computer graphics and image processing*, 1975, vol. 4, no 3, p. 248-270.
- (Dhawan et al.,2011) DHAWAN, Atam P. *Medical image analysis*. John Wiley & Sons, 2011.
- (Donoho et al.,1994) DONOHO, David L. et JOHNSTONE, Jain M. Ideal spatial adaptation by wavelet shrinkage. *biometrika*, 1994, vol. 81, no 3, p. 425-455.
- (Ece et al.,2011) ECE, C. et MULLANA, M. M. U. Image quality assessment techniques pn spatial domain. *IJCST*, 2011, vol. 2, no 3, p. 177.
- (ESHRE, 1998) EUROPEAN SOCIETY FOR HUMAN REPRODUCTION AND EMBRYOLOGY (ESHRE) ANDROLOGY SPECIAL INTEREST GROUP. Guidelines on the application of CASA technology in the analysis of spermatozoa. *Hum Reprod*, 1998, vol. 13, p. 142-145.
- (Fertilite-info. 2019) *Spermatogénèse*, <https://www.fertilite-info.fr/booster-sa-fertilite/fertimax-antioxydants-pour-la-fertilite%20masculine>. Consulté le 15/12/2019.

- (Fisher et al.,2003) FISHER, Robert, PERKINS, Simon, WALKER, Ashley, et al. Hypermedia image processing reference. <http://homepages.inf.ed.ac.uk/rbf/HIPR2/>, 2003.
- (Fizazi Anissa. 2016). FIZAZI Anissa. *Evaluation de l'infertilité masculine dans l'ouest algérien: étude épidémiologique et biologique*. 2016. Thèse de doctorat.
- (Foi et al.,2008) FOI, Alessandro, TRIMECHE, Mejdj, KATKOVNIK, Vladimir, et al. Practical Poissonian-Gaussian noise modeling and fitting for single-image raw-data. *IEEE Transactions on Image Processing*, 2008, vol. 17, no 10, p. 1737-1754.
- (Frydman et coll. 1997) FRYDMAN, René, HAMAMAH, Samir, et OLIVENNES, François. *Les procréations médicalement assistées*. Presses universitaires de France, 1997.
- (Gaffney et al. 2011) GAFFNEY, Eamonn A., GADÊLHA, H., SMITH, D. J., *et al.* Mammalian sperm motility: observation and theory. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 2011, vol. 43, p. 501-528.
- (Gang et al., 2013) GANG, Liu, SHANGKUN, Ning, YUGAN, You, et al. An improved moving objects detection algorithm. In : 2013 International Conference on Wavelet Analysis and Pattern Recognition. IEEE, 2013. p. 96-102.
- (García-Olalla et al ;2015) GARCÍA-OLALLA, Oscar, ALEGRE, Enrique, FERNÁNDEZ-ROBLES, Laura, et al. Acrosome integrity assessment of boar spermatozoa images using an early fusion of texture and contour descriptors. *Computer methods and programs in biomedicine*, 2015, vol. 120, no 1, p. 49-64.
- (Ghasemian et al., 2015) GHASEMIAN, Fatemeh, MIRROSHANDEL, Seyed Abolghasem, MONJI-AZAD, Sara, et al. An efficient method for automatic morphological abnormality detection from human sperm images. *Computer methods and programs in biomedicine*, 2015, vol. 122, no 3, p. 409-420.
- (Ghazel et al.,2004) GHAZEL, Mohsen. Adaptive fractal and wavelet image denoising. 2004.
- (Gonzales et al.,1992) GONZALES, Rafael C. *RE Woods digital image processing*. MA: Addison-Wesley, 1992.
- (Guihai luo et al.,2010) LUO, Guihai, HUANG, Wenming, et LI, Song. 2-D maximum entropy spermatozoa image segmentation based on Canny operator. In : 2010 International Conference on Intelligent Computing and Integrated Systems. IEEE, 2010. p. 243-246.
- (Hamilton, 2020) Analyseur de sperme Hamilton-Thorne. Consulté le 21/08/2020. <https://www.hamiltonthorne.com/index.php/ceros-ii-clinical> ,2020.
- (Hansen et al. 1991) HANSEN, Peter Vejby, GLAVIND, Karin, PANDURO, Jytte, *et al.* Paternity in patients with testicular germ cell cancer: pretreatment and post-treatment findings. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 1991, vol. 27, no 11, p. 1385-1389.
- (Hasikin et al.,2016) HASIKIN, Khairunnisa, ISA, Nor Ashidi Mat, MOHAMED, Mahaneem, et al. A new region-based adaptive thresholding for sperm motility segmentation. *Malaysian Journal of Computer Science*, 2017, vol. 29, no 4, p. 272-286.
- (Hidayatullah et al., 2014) HIDAYATULLAH, Priyanto et ZUHDI, Miftahudin. Automatic sperms counting using adaptive local threshold and ellipse detection. In : 2014

- International Conference on Information Technology Systems and Innovation (ICITSI). IEEE, 2014. p. 56-61.
- (Hk et al.,2008) HK, Huang Bernie, DAE-SHIK, Kim, et al. (ed.). Principles and advanced methods in medical imaging and image analysis. World Scientific, 2008.
- (Holt et al., 2007) HOLT, William V., O'BRIEN, Justine, et ABAIGAR, Teresa. Applications and interpretation of computer-assisted sperm analyses and sperm sorting methods in assisted breeding and comparative research. *Reproduction, fertility and development*, 2007, vol. 19, no 6, p. 709-718.
- (Honigberg et al. 2000) HONIGBERG, Lee et KENYON, Cynthia. Establishment of left/right asymmetry in neuroblast migration by UNC-40/DCC, UNC-73/Trio and DPY-19 proteins in *C. elegans*. *Development*, 2000, vol. 127, no 21, p. 4655-4668.
- (Hu et al., 2012) HU, Y. A., LU, J. C., LU, N. Q., et al. Comparison of four methods for sperm counting. *Zhonghua nan ke xue= National journal of andrology*, 2006, vol. 12, no 3, p. 222-4, 227.
- (Huang et al,2017) HUANG, Qinghua, LUO, Yaozhong, et ZHANG, Qiangzhi. Breast ultrasound image segmentation: a survey. *International journal of computer assisted radiology and surgery*, 2017, vol. 12, no 3, p. 493-507.
- (Hurowitz et al., 1995) HUROWITZ, Evan H., LEUNG, Andrew, et WANG, Christina. Evaluation of the CellTrak Computer-Assisted Sperm Analysis System in comparison to the Cellsoft System to measure human sperm hyperactivation. *Fertility and sterility*, 1995, vol. 64, no 2, p. 427-432.
- (Ibrahim et al., 2007) IBRAHIM, Haidi et KONG, Nicholas Sia Pik. Brightness preserving dynamic histogram equalization for image contrast enhancement. *IEEE Transactions on Consumer Electronics*, 2007, vol. 53, no 4, p. 1752-1758.
- (Imani et al.,2014) Imani, Y., Teyfour, N., Ahmadzadeh, M. R., et al., 2014, A new method for multiple sperm cells tracking. *Journal of medical signals and sensors*, 4(1), 35.
- (Jain et al., 1989) JAIN, Anil K. Fundamentals of digital image processing. Prentice-Hall, Inc., 1989.
- (Jain et al.,1979) JAIN, Ramesh, MARTIN, W. N., et AGGARWAL, J. K. Segmentation through the detection of changes due to motion. *Computer Graphics and Image Processing*, 1979, vol. 11, no 1, p. 13-34.
- (Jarow et al. 1989) JAROW, Jonathan P., ESPELAND, Mark A., et LIPSHULTZ, Larry I. Evaluation of the azoospermic patient. *The Journal of urology*, 1989, vol. 142, no 1, p. 62-65.
- (Jeziarska,2011) JEZIARSKA, Anna, CHAUX, Caroline, PESQUET, Jean-Christophe, et al. An EM approach for Poisson-Gaussian noise modeling. In : 2011 19th European Signal Processing Conference. IEEE, 2011. p. 2244-2248.
- (Jinxiang et al., 2018) MA, Jinxiang, FAN, Xinnan, YANG, Simon X., et al. Contrast limited adaptive histogram equalization-based fusion in YIQ and HSI color spaces for underwater image enhancement. *International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence*, 2018, vol. 32, no 07, p. 1854018.
- (Johnson et al.,2012) JOHNSON, Jayme. Not seeing is not believing: improving the visibility of your fluorescence images. *Molecular biology of the cell*, 2012, vol. 23, no 5, p. 754-757.

- (Joshi et al.,2016) JOSHI, Nitin, GUPTA, Divya, SURYAVANSHI, Shakti, et al. Analysis of trends and dominant periodicities in drought variables in India: a wavelet transform based approach. *Atmospheric Research*, 2016, vol. 182, p. 200-220.
- (Khalifa et al., 2018) KHALIFA, Nour Eldeen M., TAHA, Mohamed Hamed N., et HASSANIEN, Aboul Ella. Automatic Counting and Visual Multi-tracking System for Human Sperm in Microscopic Video Frames. In : *International Conference on Advanced Intelligent Systems and Informatics*. Springer, Cham, 2018. p. 525-531.
- (Kheirkhah et al.,2019) KHEIRKHAH, Fateme Mostajer, MOHAMMADI, Hamid Reza Sadegh, et SHAHVERDI, Abdolhossein. Efficient and robust segmentation and tracking of sperm cells in microscopic image sequences. *IET Computer Vision*, 2019, vol. 13, no 5, p. 489-499.
- (Koonsanit et al.,2017) KOONSANIT, Kitti, THONGVIGITMANEE, Saowapak, PONGNAPANG, Napapong, et al. Image enhancement on digital x-ray images using N-CLAHE. In : *2017 10th Biomedical Engineering International Conference (BMEiCON)*. IEEE, 2017. p. 1-4.
- (Kvist et Björndahl. 2002) KVIST, Ulrik et BJÖRND AHL, Lars (ed.). *Manual on basic semen analysis: 2002*. Oxford University Press, 2002.
- (Lampiao, 2009) LAMPIAO, Fanuel. Variation of semen parameters in healthy medical students due to exam stress. *Malawi Medical Journal*, 2009, vol. 21, no 4.
- (Larsen et al., 2000) LARSEN, Lene, SCHEIKE, Thomas, JENSEN, Tina Kold, et al. Computer-assisted semen analysis parameters as predictors for fertility of men from the general population. *Human Reproduction*, 2000, vol. 15, no 7, p. 1562-1567.
- (Le Lannou et al., 1992) LANNOU, D. Le, GRIVEAU, J. F., PICHON, JP Le, et al. Effects of chamber depth on the motion pattern of human spermatozoa in semen or in capacitating medium. *Human Reproduction*, 1992, vol. 7, no 10, p. 1417-1421.
- (Lieberman. 1993) LIEBERMAN, Leslie Sue. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervicle mucus interaction, By WHO Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction. viii+ 107 pp. Cambridge: Cambridge University Press, 1992. \$29.95. *American Journal of Human Biology*, 1993, vol. 5, no 5, p. 594-595.
- (Liu et al., 1991) LIU, DE YI, CLARKE, GARY N., et BAKER, HW Gordon. Relationship between sperm motility assessed with the Hamilton-Thorn motility analyzer and fertilization rates in vitro. *Journal of andrology*, 1991, vol. 12, no 4, p. 231-239.
- (Loosli et al.,2005) LOOSLI, Gaëlle, CANU, Stéphane, VISHWANATHAN, S. V. N., et al. Boîte à outils SVM simple et rapide. *Revue d'intelligence artificielle*, 2005, vol. 19, no 4-5, p. 741-767.
- (Lornage. 2004) LORNAGE, J. Spermogramme: normes de l'OMS. *Gynécologie obstétrique pratique*, 2004, no 144, p. 10-11.
- (Lu et al, 2014) LU, J. C., HUANG, Y. F., et LÜ, N. Q. Computer-aided sperm analysis: past, present and future. *Andrologia*, 2014, vol. 46, no 4, p. 329-338.

- (Lu et al., 2010) LU, Jin-Chun, ZHANG, Hong-Ye, HU, Yu-An, et al. A survey on the status of semen analysis in 118 laboratories in China. *Asian journal of andrology*, 2010, vol. 12, no 1, p. 104.
- (Lucie, 2019) POST, Lucie. Validation de méthode du CASA (Computer-Aided Sperm Analysis) Hamilton Thorne CEROS II pour son application en routine dans un laboratoire de spermologie. 2019.
- (Mack et al.,1988) MACK, Serdia O., WOLF, Don P., et TASH, Joseph S. Quantitation of specific parameters of motility in large numbers of human sperm by digital image processing. *Biology of reproduction*, 1988, vol. 38, no 2, p. 270-281.
- (Maggavi et al.,2019) MAGGAVI, R. R., PUJARI, S. A., et VIJAYKUMAR, C. N. Motility Analysis with Morphology: Study Related to Human Sperm. *Procedia Computer Science*, 2019, vol. 152, p. 179-185.
- (Mahdavi et al., 2011) MAHDAVI, H. Seyed, MONADJEMI, A., et VAFAE, A. Sperm detection in video frames of semen sample using morphology and effective ellipse detection method. *Journal of medical signals and sensors*, 2011, vol. 1, no 3, p. 206.
- (Marques, 2011) MARQUES, Oge. Practical image and video processing using MATLAB. John Wiley & Sons, 2011.
- (Mathworks, 2019) <https://www.mathworks.com/help/images/morphological-dilation-and-erosion.html> (consulté 12/03/2019).
- (Mbacker. 1984) MBACKER, F. *Essai de détermination des normes du spermogramme et du spermocytogramme en milieu africain sénégalais*. 1984. Thèse de doctorat. Thèse Méd, Dakar.
- (Meiniel et al.,2018) MEINIEL, William, OLIVO-MARIN, Jean-Christophe, et ANGELINI, Elsa D. Denoising of microscopy images: a review of the state-of-the-art, and a new sparsity-based method. *IEEE Transactions on Image Processing*, 2018, vol. 27, no 8, p. 3842-3856.
- (Meyer, 1992) MEYER, Yves. *Wavelets and Operators: Volume 1*. Cambridge university press, 1992.
- (Mathworks, 2019) <https://www.mathworks.com/help/images/morphological-dilation-and-erosion.html> (consulté 12/03/2019).
- (Mortimer et al., 2000) S. T. Mortimer, "CASA: Practical aspects," *Journal of Andrology*, 2000, vol. 21, no. 4, pp. 515–524.
- (Mortimer,1994) MORTIMER, David. Practical laboratory andrology. Oxford University Press on Demand, 1994.
- (Mortimer,1996) MORTIMER, D. Consensus workshop on advanced diagnostic andrology techniques. ESHRE (European Soc Human Reprod Embryology) Androl Special Interest Group. *Hum Reprod*, 1996, vol. 11, p. 1463-1479.
- (Mortimer,2014) MORTIMER David. Practical laboratory andrology. Oxford University Press on Demand, 1994.
- (Nafisi et al.,2007) NAFISI, Vahid Reza, MORADI, Mohammad Hasan, et NASR-ESFAHANI, Mohammad Hosain. A template matching algorithm for sperm tracking and classification. *Physiological measurement*, 2005, vol. 26, no 5, p. 639.

- (Nandini et al., 2014) CHAUDHARI, Nandini M. et PAWAR, Bhausaheb V. New hybrid approach for identification of spermatozoa in human semen sample using microscope image processing techniques. *Advances in Image and Video Processing*, 2014, vol. 2, no 6, p. 15-24.
- (Oehninger et Kruger. 2007) OEHNINGER, Sergio et KRUGER, Thinus. *Male infertility: diagnosis and treatment*. 2007.
- (OMS ,2010) WORLD HEALTH ORGANIZATION, et al. *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*. 2010.
- (Opinion, 2012) PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, et al. Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. *Fertility and sterility*, 2012, vol. 98, no 2, p. 294-301.
- (Otsu, 1979) OTSU, Nobuyuki. A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE transactions on systems, man, and cybernetics*, 1979, vol. 9, no 1, p. 62-66.
- (Ouadi et al.,2015) BEYA, Ouadi, HITTAWE, Mazen, SIDIBÉ, Désiré, et al. Automatic detection and tracking of animal sperm cells in microscopy images. In : 2015 11th International Conference on Signal-Image Technology & Internet-Based Systems (SITIS). IEEE, 2015. p. 155-159
- (Ouessi et al.,2012) OUESSAI, ASMAA. Estimation des paramètres de trafic routier par vision artificielle. 2012. Thèse de doctorat. USTO.
- (Ounis Leyla. 2014) OUNIS Leyla. Les anomalies morphologiques responsables des infertilités masculines dans l'Est Algérien. 2014. Thèse de doctorat.
- (Palermo et al. 1992) PALERMO, Gianpiero, JORIS, Hubert, DEVROEY, Paul, *et al.* Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *The Lancet*, 1992, vol. 340, no 8810, p. 17-18.
- (Patton et Battaglia. 2007) PATTON, Phillip E. et BATTAGLIA, David E. (ed.). *Office andrology*. Springer Science & Business Media, 2007.
- (Pawley et al.,2006) Pawley J. *Handbook of Biological Confocal Microscopy*. 3rd. New York: Springer Science + Business; 2006.
- (Pisano et al.,1998) PISANO, Etta D., ZONG, Shuquan, HEMMINGER, Bradley M., et al. Contrast limited adaptive histogram equalization image processing to improve the detection of simulated spiculations in dense mammograms. *Journal of Digital imaging*, 1998, vol. 11, no 4, p. 193.
- (Pontonnier et Bujan. 1993) PONTONNIER, F. et BUJAN, L. Comment reconnaître et classer une infécondité masculine. *La Revue du praticien (Paris)*, 1993, vol. 43, no 8, p. 941-947.
- (Qiaoliang et. Al., 2012) LI, Qiaoliang, CHEN, Xi, ZHANG, Huisheng, et al. Automatic human spermatozoa detection in microscopic video streams based on OpenCV. In : 2012 5th International Conference on BioMedical Engineering and Informatics. IEEE, 2012. p. 224-227.
- (Radke et al.,2005) RADKE, Richard J., ANDRA, Srinivas, AL-KOFAHI, Omar, et al. Image change detection algorithms: a systematic survey. *IEEE transactions on image processing*, 2005, vol. 14, no 3, p. 294-307.
- (Ravanfar et al., 2011) RAVANFAR, Mohammad R. et MORADI, Mohammad H. Low contrast sperm detection and tracking by Watershed algorithm and Particle filter. In

- : 2011 18th Iranian Conference of Biomedical Engineering (ICBME). IEEE, 2011. p. 260-263.
- (Ren et al., 2019) REN, Ruyong, GUO, Zhiqing, JIA, Zhenhong, et al. Speckle noise Removal in image-based Detection of Refractive index changes in porous Silicon Microarrays. *Scientific reports*, 2019, vol. 9, no 1, p. 1-14.
- (Romdhane Samira. 2010) ROMDHANE Samira. *Les nouvelles technologies de l'assistance médicale à la procréation (amp) et la qualité des gamètes et des embryons: évaluation de l'épigénome*. 2010. Thèse de doctorat.
- (Rothmann et al. 2007) ROTHMANN, Susan A. et REESE, Angela A. Semen analysis: the test techs love to hate. *Medical Laboratory Observer*, 2007, vol. 39, no 4, p. 18.
- (Saad narimen, 2018) SAAD, Narimen. Reconnaissance tridimensionnelle de visage. 2018. Thèse de doctorat. université Mohamed Khider de Biskra.
- (Samplaski et al. 2010) SAMPLASKI, Mary K., AGARWAL, Ashok, SHARMA, Rakesh, et al. New generation of diagnostic tests for infertility: review of specialized semen tests. *International journal of urology*, 2010, vol. 17, no 10, p. 839-847.
- (Schlosser et al. 2007) SCHLOSSER, J., NAKIB, I., CARRÉ-PIGEON, F., et al. Infertilité masculine: définition et physiopathologie. In : *Annales d'urologie*. Elsevier Masson, 2007. p. 127-133.
- (Semmlow et al.,2004) SEMMLOW, J. L. Biosignal and biomedical image processing: MATLAB-based applications. 2004. DOI, 2004, vol. 10, p. 9780203024058.
- (Shaker et al., 2016) SHAKER, Fariba, MONADJEMI, S. Amirhassan, et NAGHSH-NILCHI, Ahmad Reza. Automatic detection and segmentation of sperm head, acrosome and nucleus in microscopic images of human semen smears. *Computer methods and programs in biomedicine*, 2016, vol. 132, p. 11-20.
- (Sharpe et Franks. 2002) SHARPE, Richard M. et FRANKS, Stephen. Environment, lifestyle and infertility—an inter-generational issue. *Nature Medicine*, 2002, vol. 8, no 10, p. S33-S40.
- (Shojaedini et al., 2012) SHOJAEDINI, Seyed Vahab, KERMANI, Ali, et NAFISI, Vahid Reza. A new method for sperm detection in human semen: Combination of hypothesis testing and local mapping of wavelet sub-bands. *Iranian Journal of Medical Physics*, 2012, vol. 9, no 4, p. 283-292.
- (Shojaedini et al., 2014) SHOJAEDINI, Seyed Vahab et HEYDARI, Masoud. Automatic sperm analysis in microscopic images of human semen: Segmentation using minimization of information distance. *Iranian Journal of Medical Physics*, 2014, vol. 11, no Issue, p. 284-293.
- (Shojaedini et al.,2017) SHOJAEDINI, Seyed Vahab, GOLDAR, Alireza, et SOORI, Mahdi. Correntropy based sperm detection: a novel spatiotemporal processing for analyzing videos of human semen. *Health and Technology*, 2018, vol. 8, no 1-2, p. 151-158.
- (Slama et al. 2006) SLAMA, R., JÉGOU, B., et CORDIER, S. Nouvelles avancées dans l'étude de l'influence de l'environnement sur la santé reproductive masculine. *Revue d'épidémiologie et de santé publique*, 2006, vol. 54, no 2, p. 167-174.

- (Starck et al.,1998) STARCK, Jean-Luc, MURTAGH, Fionn D., et BIAOUI, Albert. Image processing and data analysis: the multiscale approach. Cambridge University Press, 1998.
- (Su et al., 2012) SU, Ting-Wei, XUE, Liang, et OZCAN, Aydogan. High-throughput lensfree 3D tracking of human sperms reveals rare statistics of helical trajectories. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, vol. 109, no 40, p. 16018-16022.
- (Suwen et al.,2019) QI, Suwen, NIE, Tao, LI, Qiaoliang, et al. A sperm cell tracking recognition and classification method. In : 2019 International Conference on Systems, Signals and Image Processing (IWSSIP). IEEE, 2019. p. 163-167.
- (Syahputra et al.2018) SYAHPUTRA, M. F., CHAIRANI, R., RAHMAT, R. F., et al. Identification Male Fertility Through Abnormalities Sperm Based Morphology (Teratospermia) using Invariant Moment Method. In : Journal of Physics: Conference Series. IOP Publishing, 2018. p. 012107.
- (Talarczyk-Desole et al, 2017) TALARCZYK-DESOLE, Joanna, BERGER, Anna, TASZAREK-HAUKE, Grażyna, et al. Manual vs. computer-assisted sperm analysis: can CASA replace manual assessment of human semen in clinical practice?. Ginekologia polska, 2017, vol. 88, no 2, p. 56-60.
- (The Turek Clinic. 2014) Spermatogenesis, <https://www.theturekclinic.com/spermatogenesis-sperm-production-process-development-testicles-genetic-spermatozoon-sertoli-cells/>; Consulté le: 06/04/2016.
- (Urbano et al., 2017) URBANO, Leonardo F., MASSON, Puneet, VERMILYEA, Matthew, et al. Automatic tracking and motility analysis of human sperm in time-lapse images. IEEE transactions on medical imaging, 2016, vol. 36, no 3, p. 792-801
- (Van der Horst, et al.,2017) VAN DER HORST, Gerhard et DU PLESSIS, Stefan S. Not just the marriage of Figaro: but the marriage of WHO/ESHRE semen analysis criteria with sperm functionality. Adv. Androl. Online, 2017, vol. 4, p. 6-21.
- (Vanip et al., 1995) VAPNIK, Vladimir N. The nature of statistical learning. Theory, 1995.
- (Vested et al., 2011) VESTED, Anne, RAMLAU-HANSEN, Cecilia H., BONDE, Jens P., et al. A comparison of conventional and computer-assisted semen analysis (CRISMAS software) using samples from 166 young Danish men. Asian journal of andrology, 2011, vol. 13, no 3, p. 453.
- (Vincent et al.,1991) VINCENT, Luc. Morphological grayscale reconstruction in image analysis: applications and efficient algorithms. IEEE transactions on image processing, 1993, vol. 2, no 2, p. 176-201.
- (Virginie Pierre.2013) PIERRE, Virginie. *L'acrosome du spermatozoïde de sa biogenèse à son rôle physiologique*. 2013. Thèse de doctorat.
- (Vitrolife. 2012) Vitrolife, <https://www.vitrolife.com/globalassets/support-documents/product-manuals/microcell-user-manual>, 2012.Consulté le 23/02/18.
- (Wang et al.,2004) WANG, Zhou, BOVIK, Alan C., SHEIKH, Hamid R., et al. Image quality assessment: from error visibility to structural similarity. IEEE transactions on image processing, 2004, vol. 13, no 4, p. 600-612.

-
- (Welch et al.,1995) WELCH, Greg, BISHOP, Gary, et al. An introduction to the Kalman filter. 1995.
- (Weng et al.,2006) WENG, Binwei et BARNER, Kenneth E. Time-varying Volterra system identification using Kalman filtering. In : 2006 40th Annual Conference on Information Sciences and Systems. IEEE, 2006. p. 1617-1622.
- (Wikipedia. 2018) Épididyme, Wikipedia, The Free Encylclopedia, <https://fr.wikipedia.org/wiki/%C3%89pididyme>, consulté le: 27/05/2018 .
- (Wikipedia. 2019) Spermatozoïde humain. https://fr.wikipedia.org/wiki/Spermatozo%C3%AFde_humain. Consulté le : 13/12/2019.
- (Wilcox et al. 1995) WILCOX, Allen J., WEINBERG, Clarice R., et BAIRD, Donna D. Timing of sexual intercourse in relation to ovulation—effects on the probability of conception, survival of the pregnancy, and sex of the baby. *New England Journal of Medicine*, 1995, vol. 333, no 23, p. 1517-1521.
- (Wu et al.,2010) WU, Qiang, MERCHANT, Fatima, et CASTLEMAN, Kenneth. Microscope image processing. Elsevier, 2010
- (Yaheng et al.,2010) REN, Yaheng, WEN, Peizhi, LI, Song, et al. An improved algorithm of rat sperm image segmentation and counting. In : 2010 International Conference on Intelligent Computing and Integrated Systems. IEEE, 2010. p. 201-204.