Apprentissage spectral pour la caractérisation et la reconnaissance du Phytoplancton par cytomètrie en flux

Guillaume WACQUET
Équipe Extraction de l'Information et Apprentissage
LISIC, ULCO EA 4491
Calais, France
Guillaume.Wacquet@lisic.univ-littoral.fr

UNIVERSITÉ DU LITTORAL CÔTE D'OPALE

Calais, le 06 Mai 2010

LISIC

Plan

Le Phytoplancton

- *Présentation générale*
- *Les enjeux*

La cytomètrie en flux

- *Présentation générale*
- *Analyse cytomètrique*
- *Difficultés de discrimination*

La classification

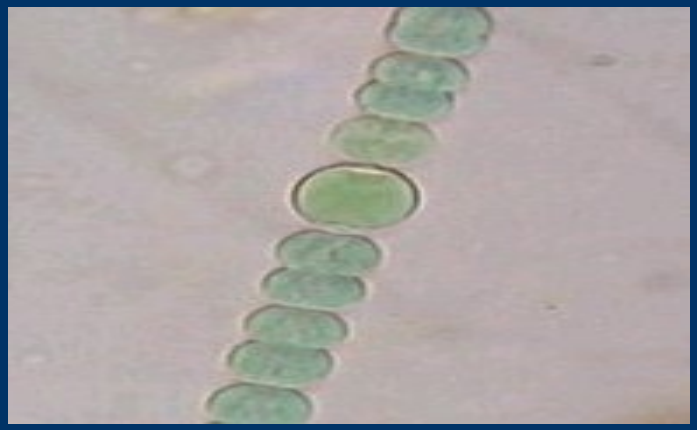
- *Classification supervisée*
- *Classification non supervisée*
- *Classification semi-supervisée*

Le Phytoplancton

Présentation générale

- ***Étymologie*** *:* du grec « phyton » et « plagkton » qui signifient respectivement « plante » et « errant »
  => Plancton végétal microscopique qui erre au gré des courants (entre 1 µm et plusieurs mm)
- ***Organisme photosynthétique*** *:* fabrication de sa biomasse grâce à l'absorption des sels minéraux et du carbone inorganique (sous forme de CO_2) sous l'effet de la lumière
- 1% de la biomasse d'organismes photosynthétiques de la planète
- Environ 6000 espèces au niveau mondial dont 70 toxiques ou nuisibles (en particulier en zones côtières)

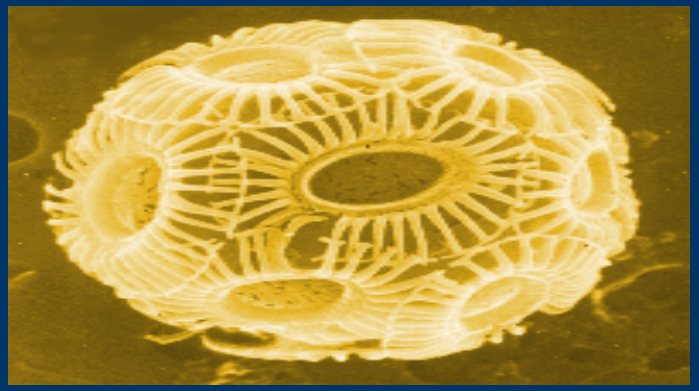
Présentation générale



Cyanobactérie (3,8 Ga)
taille : entre 1 et 10 microns

Diatomée (185 Ma)
taille : entre 20 et 200 microns

Dinoflagellé (420 Ma)
taille : plusieurs dizaines de microns



Coccolithophoridé (150 Ma)
taille : entre 10 et 30 microns

Les enjeux

Importance de l'étude de l'environnement des milieux littoraux (notamment les écosystèmes marins) :

- Sur les plans **écologique** et **climatique** :
  - *Préservation de l'environnement, biodiversité*
    - 50% de l'activité photosynthétique totale de la planète
    - 45% de la production primaire mondiale
- Sur le plan **économique** :
  - *Tourisme, Transport, Ressources exploitables et Nourriture*
    - Premier maillon de la chaîne alimentaire dans l'écosystème marin
    - Environ 70 espèces toxiques ou nuisibles

La cytomètrie en flux

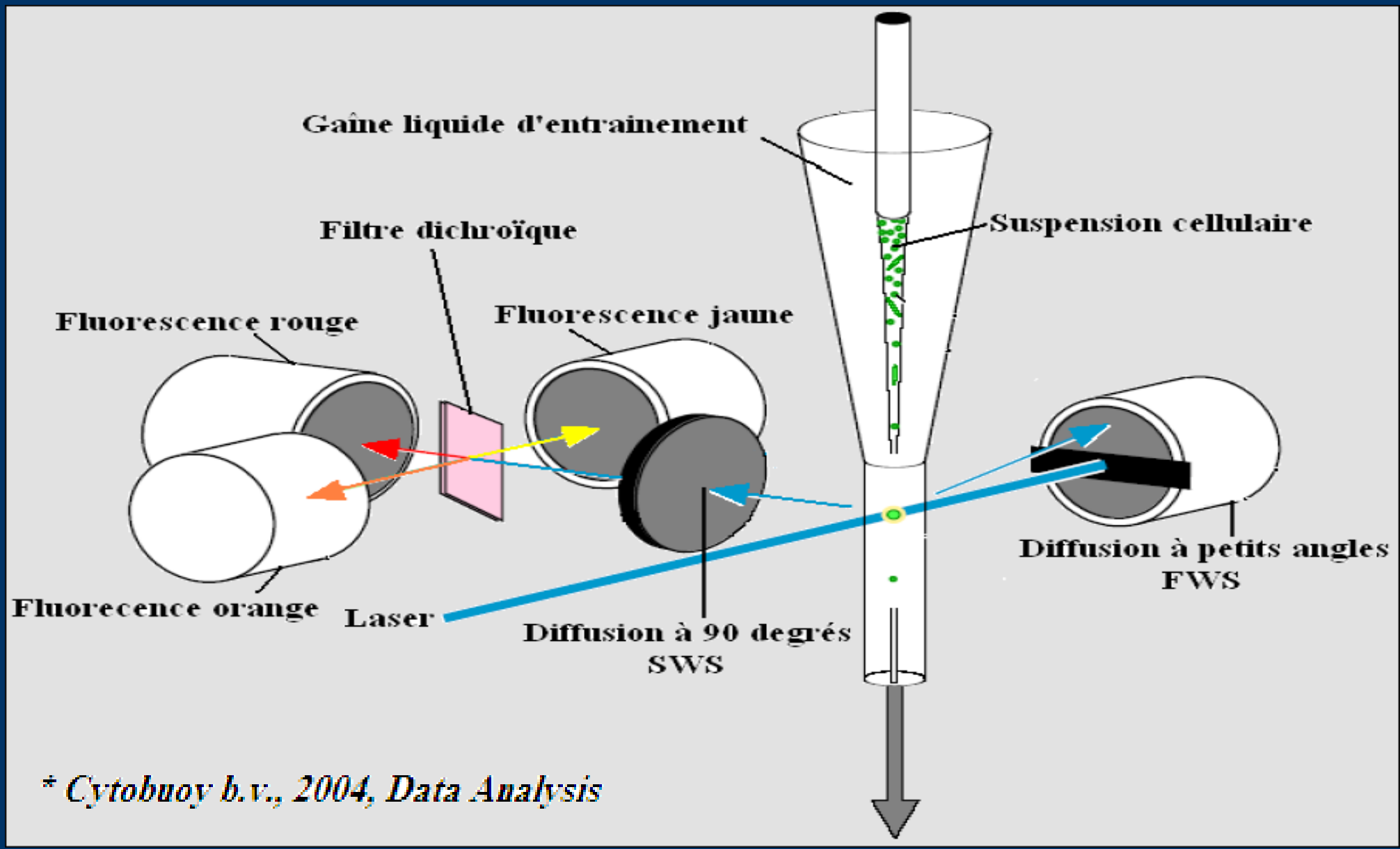
Présentation générale

- Création des premiers cytomètres en flux dans les années 1950
- Outil de mesures permettant d'obtenir certaines propriétés physiques et optiques des particules par un écoulement à grande vitesse devant un faisceau laser
- Obtention de signaux temporels → Analyse de la diffusion et de la fluorescence des particules afin de classer la population suivant plusieurs critères

CytoSub©

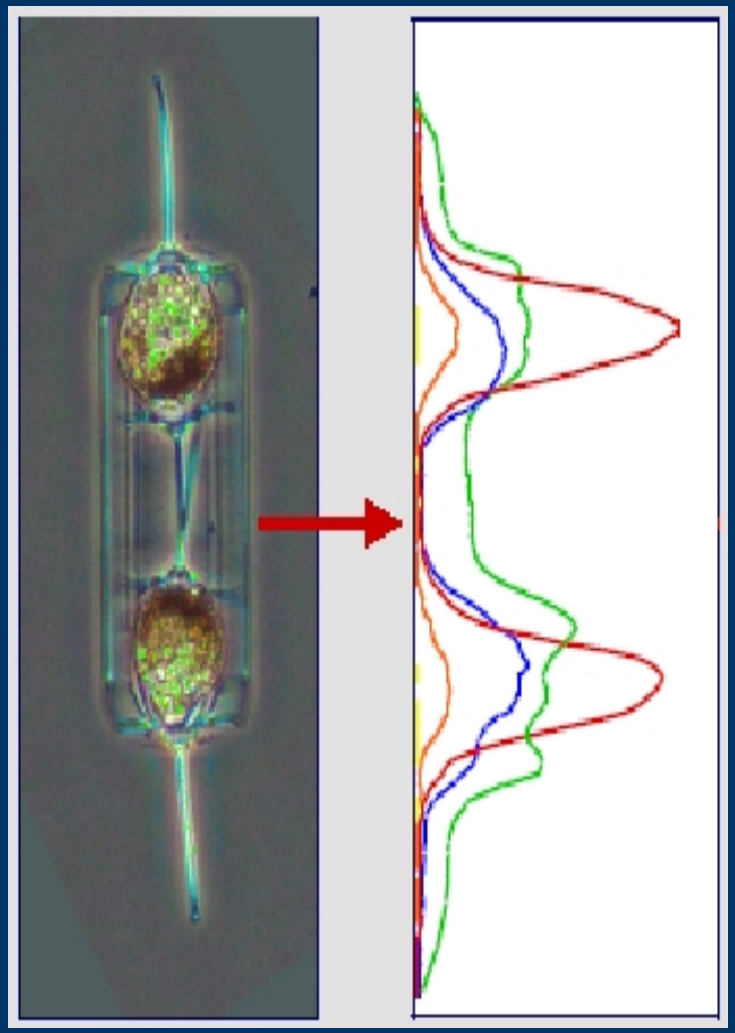
CytoSense©

Analyse cytomètrique*



** Cytobuoy b.v., 2004, Data Analysis*

Analyse cytomètrique



Courbes cytomètriques :

- 8 signaux par cellule
- Acquisition réalisée dans des conditions expérimentales identiques (fréquences échantillonnage égales, seuils de détections égaux, etc.)

- 1 signal de diffusion à petits angles FWS, qui correspond à la structure externe de la cellule
- 2 signaux de diffusion à 90° SWS (en haute et basse sensibilité), qui correspondent à la structure interne
- 2 signaux de fluorescence rouge FLR (en haute et basse sensibilité), qui caractérisent les pigments de chlorophylle
- 1 signal de fluorescence orange FLO, qui caractérise des pigments spécifiques
- 2 signaux de fluorescence jaune FLY, qui caractérisent des pigments spécifiques

Difficultés de discrimination

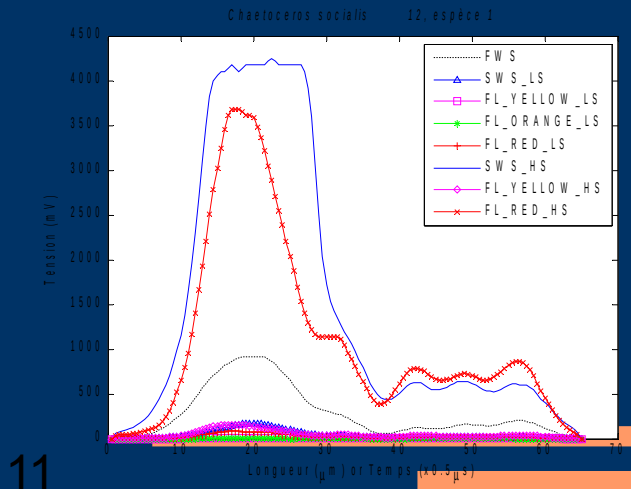
- **Entre espèces différentes :**

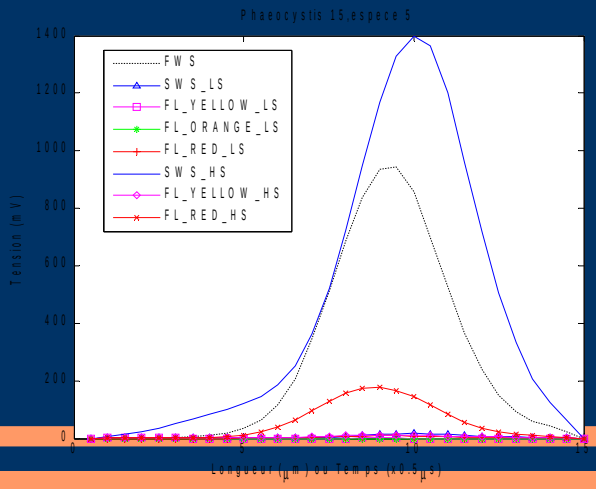
  Grande diversité de taille et de contenu pigmentaire (en qualité mais aussi en quantité), fonction du groupe auquel elles appartiennent mais également des conditions du milieu naturel

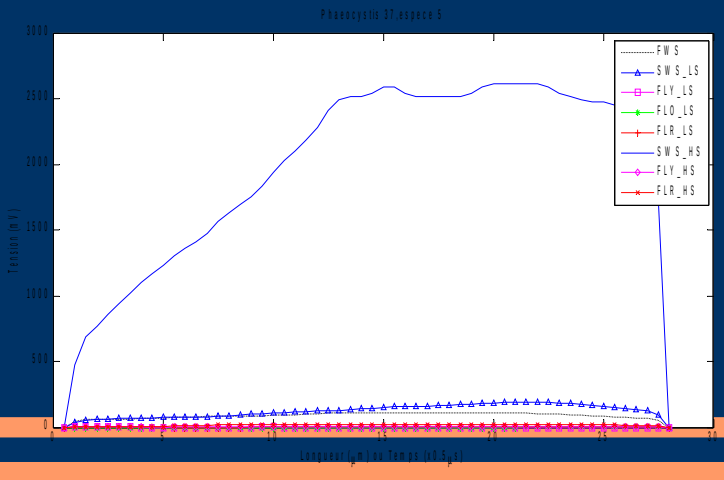
- **Pour une même espèce :**

  Structure interne (noyau et chloroplastes) variable pour une même espèce selon son état (cellule, colonie, cycle de vie, etc.)

  => Variabilité de la position des pics sur les courbes et variabilité des intensités des signaux de fluorescence





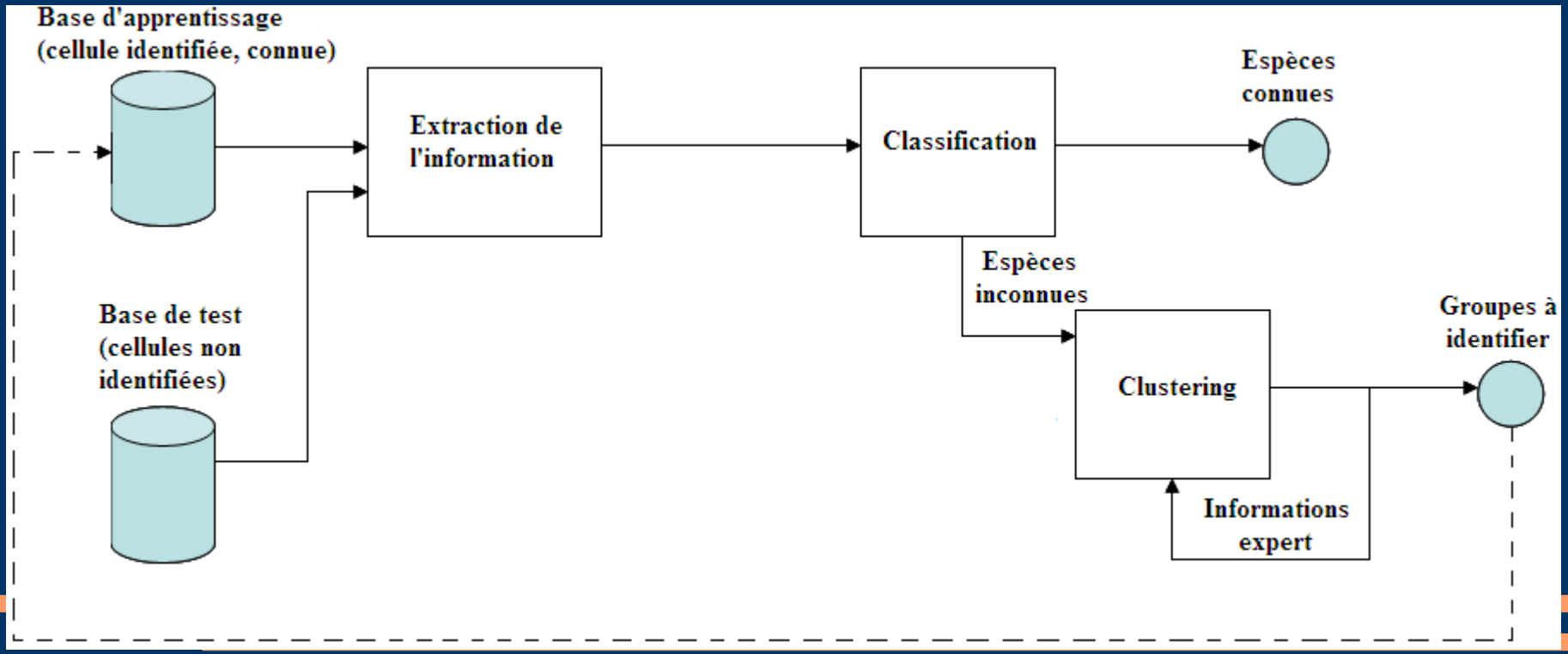


La classification

La classification

3 modes de classification :

- Classification supervisée : cellules étiquetées (base d'exemples de chaque espèce)
- Classification non supervisée (clustering) : cellules non étiquetées
- Classification semi-supervisée : clustering avec apports d'informations *a priori*

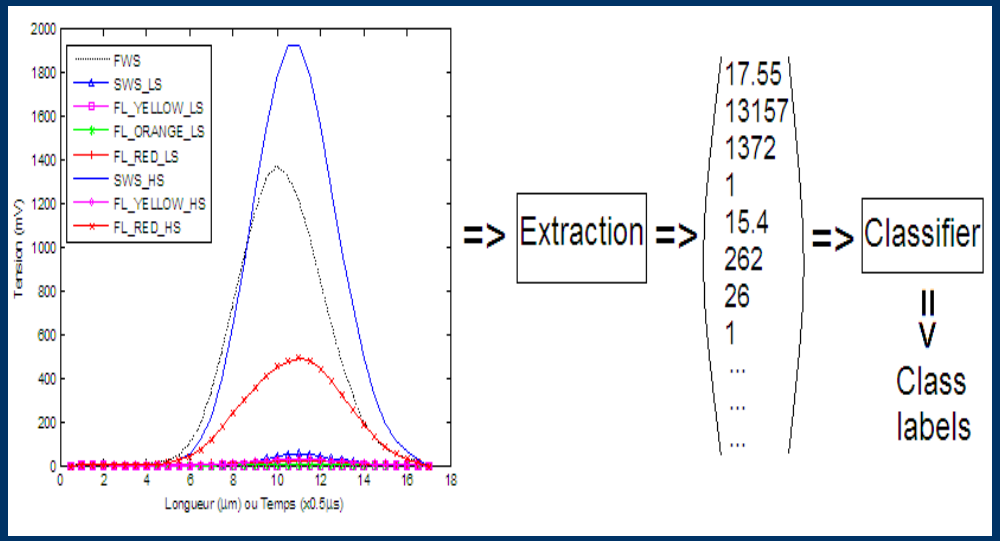


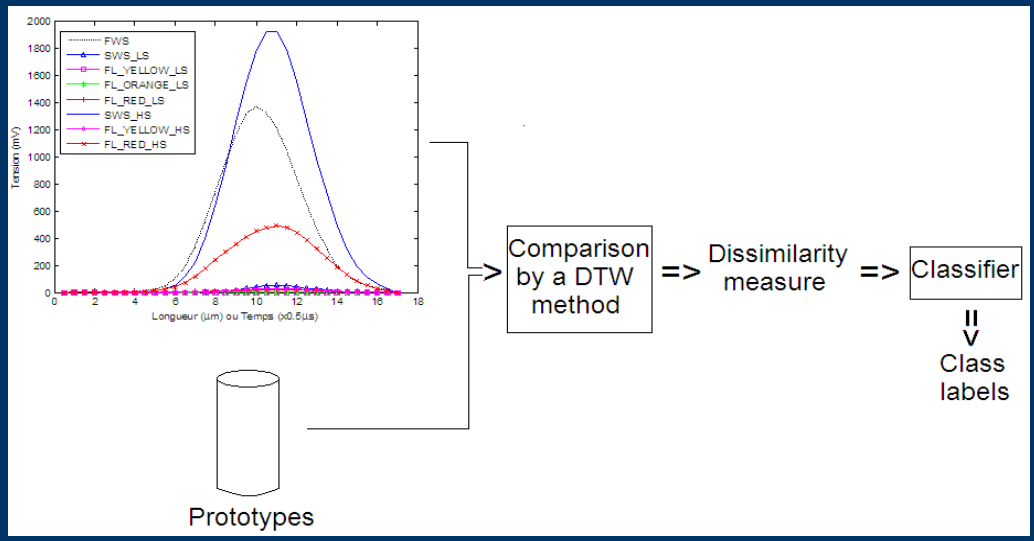
La classification supervisée

Classification supervisée

2 approches :

- Une approche basée attributs : extraction de paramètres sur les courbes cytomètriques
- Une approche basée signaux : mesure globale de dissimilarité entre les formes des signaux





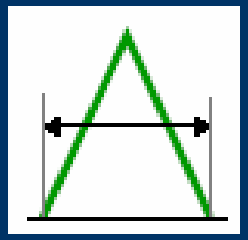
Approche basée attributs

Approche basée signaux

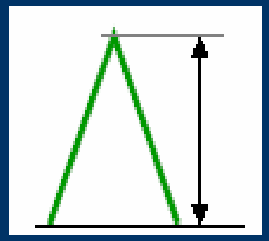
Classification supervisée

Approche basée attributs

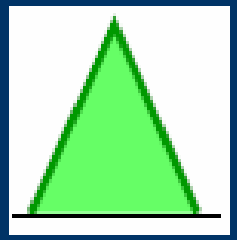
- Approche classique : chaque cellule phytoplanctonique est décrite par des attributs numériques
- 4 attributs extraits de chaque signal : longueur, hauteur, intégrale et le nombre de pics



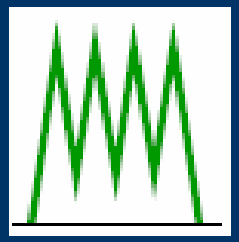
Longueur



Hauteur



Intégrale



Nombre de pics

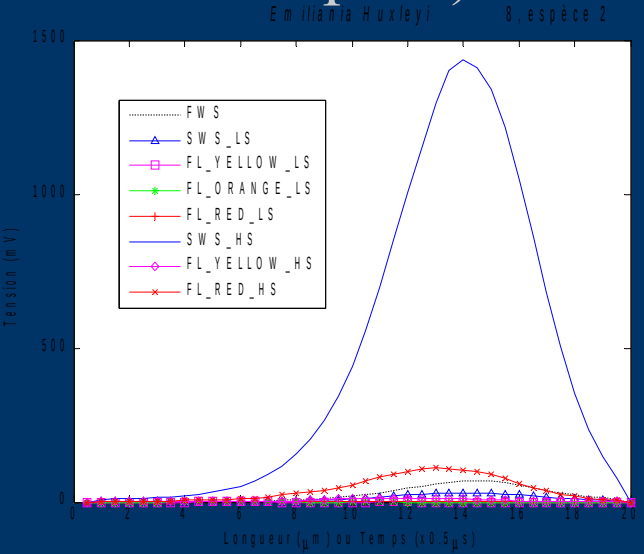
=> Chaque cellule décrite par 32 attributs extraits des 8 signaux

=> Application de classifieurs sur les points en 32-dimensions

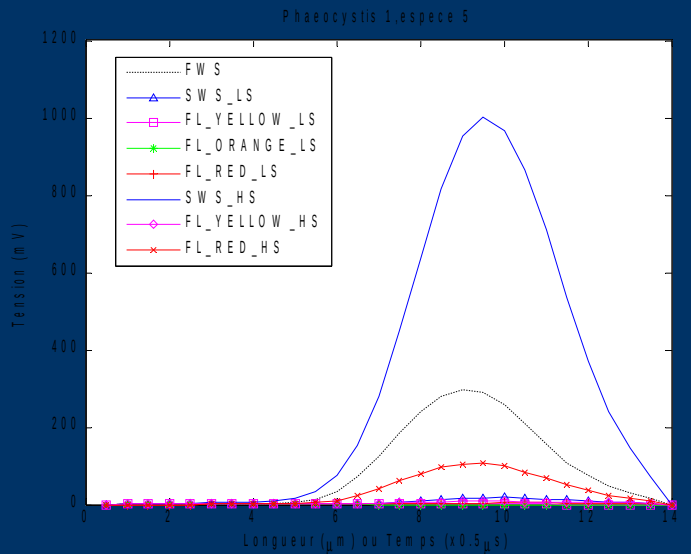
Classification supervisée

Approche basée signaux

- Approche basée sur la dissimilarité des formes des signaux
- Comparaison des signaux temporels décrivant un individu par rapport à des profils de référence
- Chaque comparaison donne une valeur de dissimilarité (associée à un label d'espèce)



=> Valeur de <= dissimilarité ???



=> Application de classifieurs sur les vecteurs de dissimilarités

Classification supervisée

Approche basée signaux

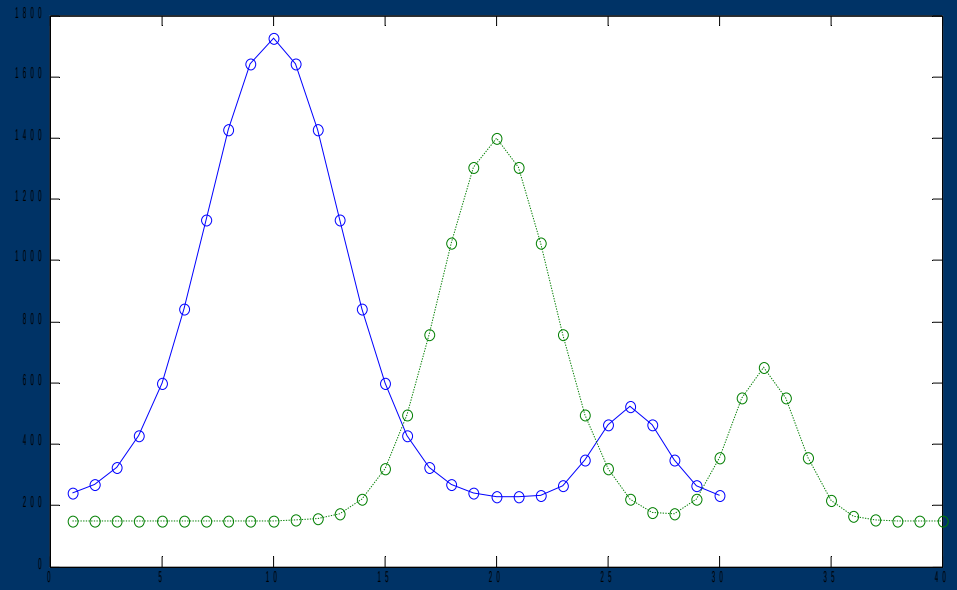
- Appariement élastique conjoint (DTW)
  - Faire correspondre au mieux les points de l'un et l'autre signal
  - Les signaux peuvent être de durées et de fréquences d'échantillonnage différentes
  - Mesure traduit la quantité de distorsion géométrique nécessaire à la superposition des deux courbes, en tolérant des déformations temporelles locales.
- Extension de l'algorithme

  → Mesure de dissimilarité (dans [0,1]) entre 2 séquences de mesures temporelles

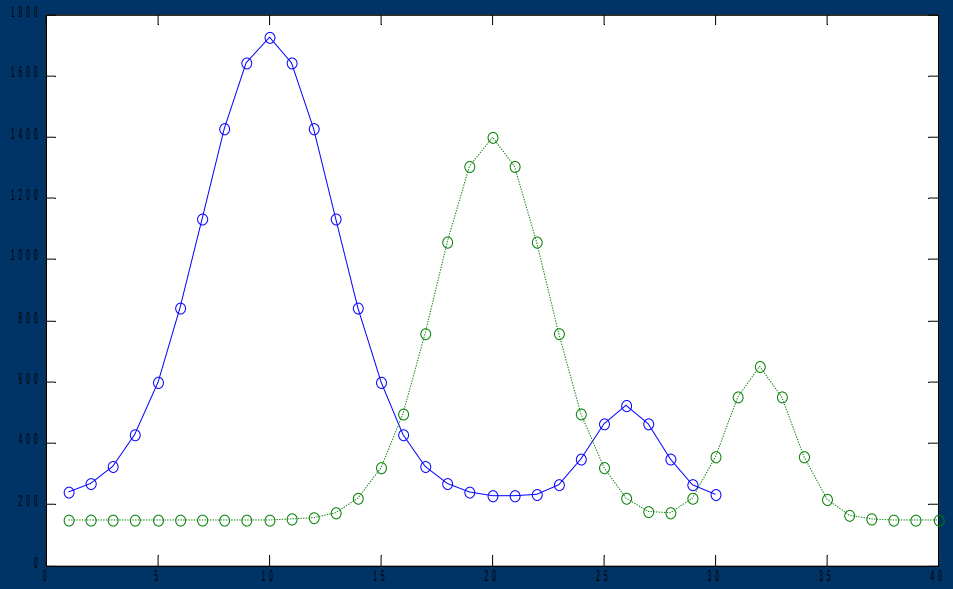
  → Dissimilarité = moyenne des distances entre points appariés

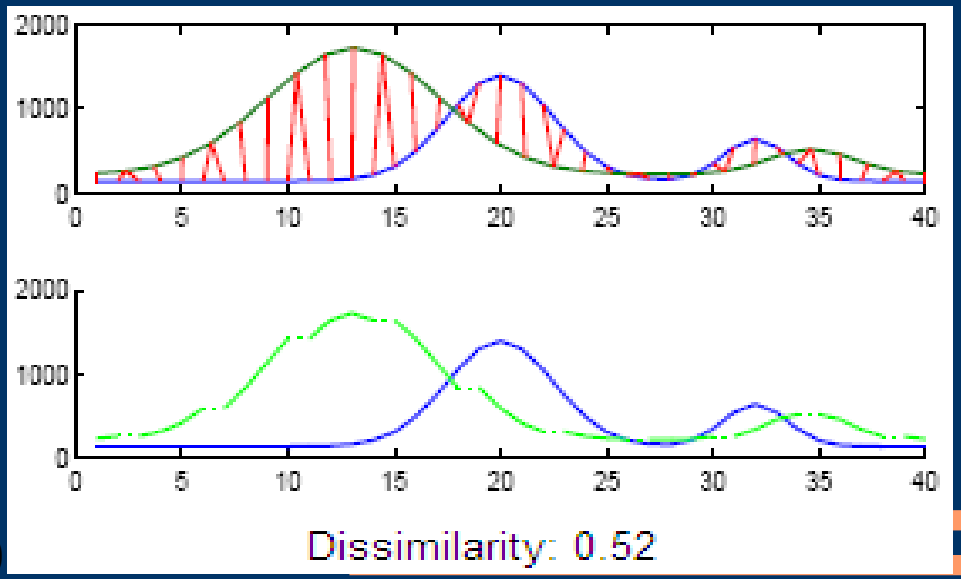
=> Algorithme souple car il permet d'apparier des points décalés dans le temps.

Classification supervisée

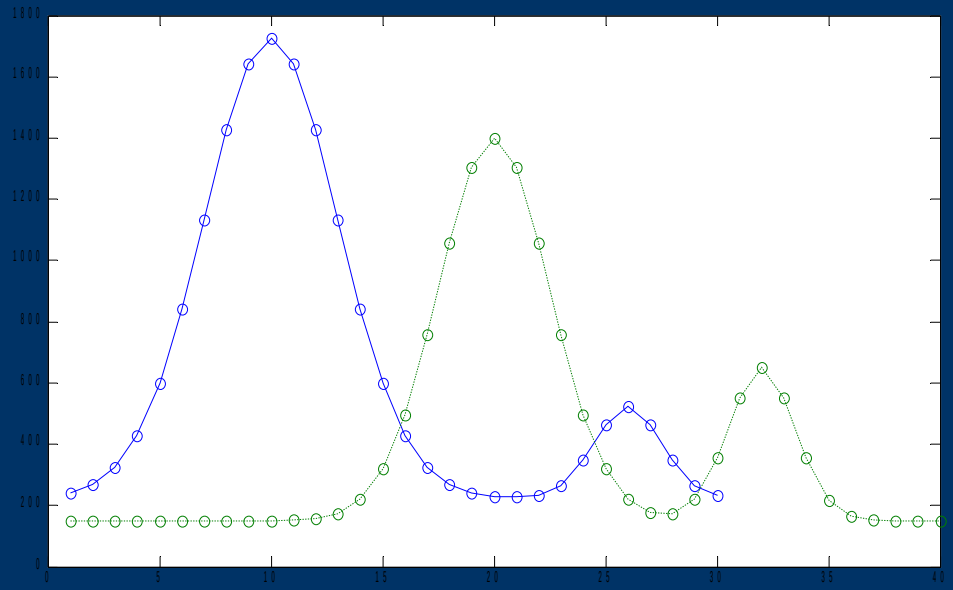


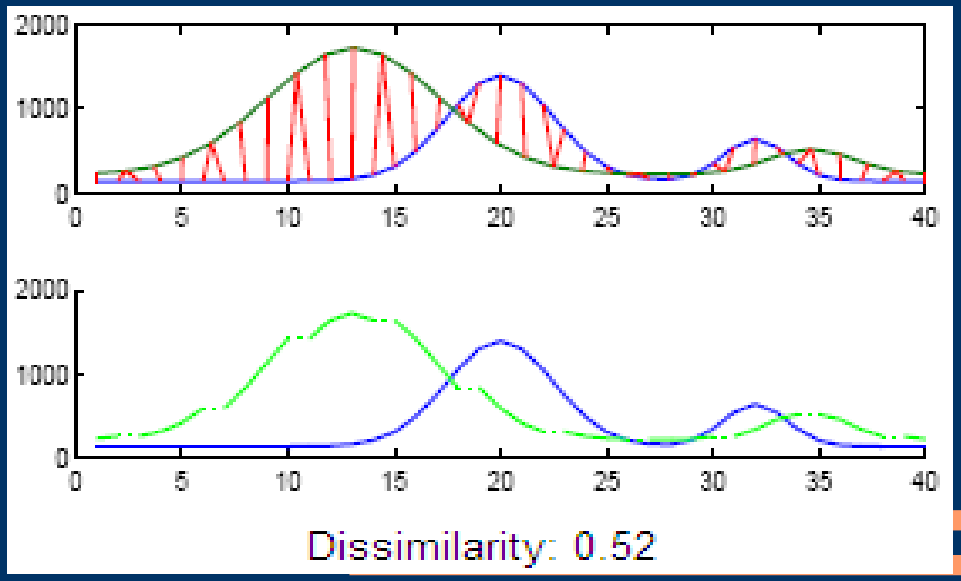
Classification supervisée

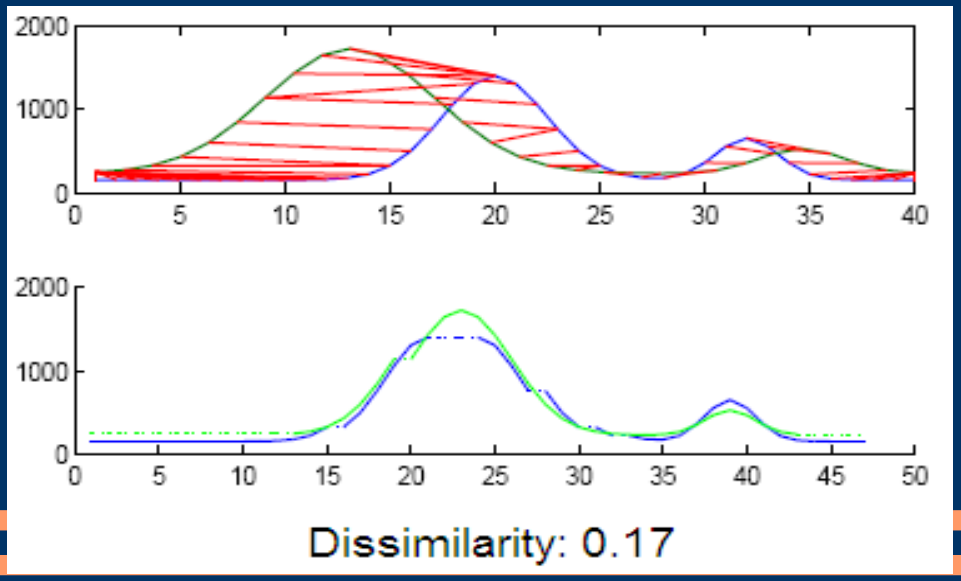




Classification supervisée







Classification supervisée

Données expérimentales

• Cellules provenant d'un unique échantillon de culture

• 7 espèces phytoplanctoniques distinctes : *Chaetoceros socialis*, *Emiliania Huxleyi*, *Lauderia annulata*, *Leptocylindrus minimus*, *Phaeocystis globosa*, *Skeletonema costatum* et *Thalassiosira rotula*

• Chaque espèce representée par 100 cellules phytoplanctoniques (étiquetées par les biologistes du LOG – UMR LOG 8187)

=> **7 espèces x 100 cellules = 700 cellules**

Classification supervisée

Classification basée attributs :

Training Fold	Fold 1	Fold 2	Fold 3	Fold 4	Mean	Std
MLP	96,9	94,8	96	94,8	**95,6**	1,1
1-NN	93,7	90,2	93,7	92,5	**92,5**	1,7
SVM2	95	91,2	90	93,9	**92,5**	2,4
SVM1	90	87,4	91	92,5	**90,2**	2,2
NBAYES	88,9	89,1	88	86,7	**88,2**	**1,1**
TREE	88	86,3	88,8	86,9	**87,5**	**1,1**

Classification basée signaux :

Training Fold	Fold 1	Fold 2	Fold 3	Fold 4	Mean	Std
MLP	98,2	97,3	97,3	96,7	**97,3**	0,7
1-NN	98,2	95,4	96,1	97,1	**96,7**	1,3
SVM1	98,8	95,6	95,6	96,1	**96,5**	1,6
SVM2	92,3	93,5	93,3	92,9	**93**	0,6
NBAYES	89,9	89,9	90,8	88	**89,6**	**1,2**
TREE	88,7	88,2	90,4	88,7	**89**	**1**

La classification non supervisée

Classification non supervisée

Taux de bonne reconnaissance élevé en supervisé

=> Information contenue dans les attributs est suffisante pour discriminer les espèces

=> Même constat pour le non supervisé ???

Utilisation d'algorithmes non supervisées

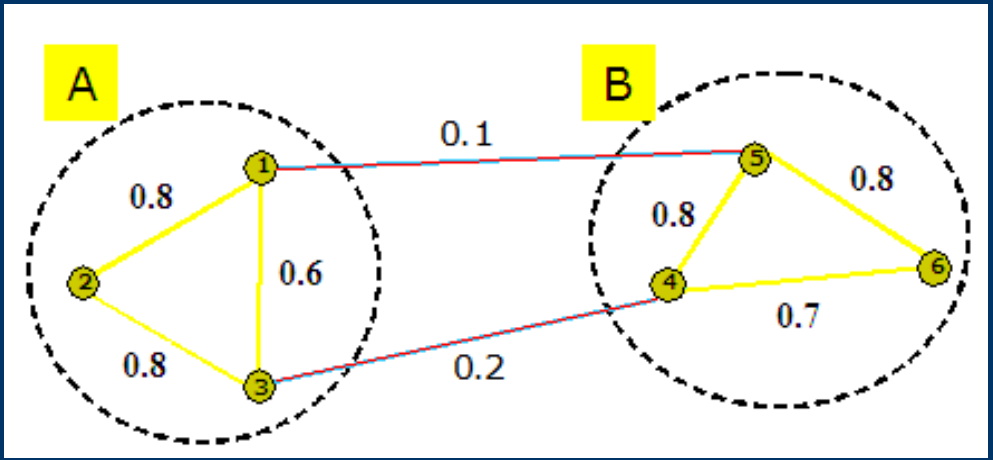
→ Expérimentations sur des échantillons d'eau provenant du milieu naturel

→ Détection de nouvelle espèce

Classification non supervisée

Spectral Clustering

- Problème de clustering = problème de segmentation de graphe



Avec : noeuds = points
liaisons entre 2 noeuds = similarités entre 2 noeuds

- Pas de suppositions sur la forme des clusters
- Facilité d'implémentation

Classification non supervisée
Spectral Clustering

- Pour une base de données composée de n points :
  - A chaque paire de points (x_i,x_j) est associée une valeur de similarité W_{ij} => matrice de similarités W
  - W_{ij} de type Gaussien définie par :

$$W_{ij} = \exp\left(\frac{-1}{2\sigma^2}.d^2(xi, xj)\right)$$

  - Partitionner le graphe en 2 clusters → fonction NCut
    => trouver 2 clusters A et B tels que :
    inter-connexions minimisées et intra-connexions maximisées

$$Cut(A, B) = \sum_{i \in A, j \in B} Wij \quad \rightarrow \quad Ncut(A, B) = \frac{Cut(A, B)}{Vol(A)} + \frac{Cut(B, A)}{Vol(B)}$$

Avec : $Vol(A) = \sum_{i \in A} \sum_{j=1}^{n} Wij$ et $Vol(B) = \sum_{i \in B} \sum_{j=1}^{n} Wij$

Classification non supervisée

Spectral Clustering

$$di = \sum_{j=1}^{n} Wij$$

=> D : matrice de degrés (avec d_i sur diagonale et 0 ailleurs)

$$Ncut(A, B) = \frac{Cut(A, B)}{Vol(A)} + \frac{Cut(B, A)}{Vol(B)}$$

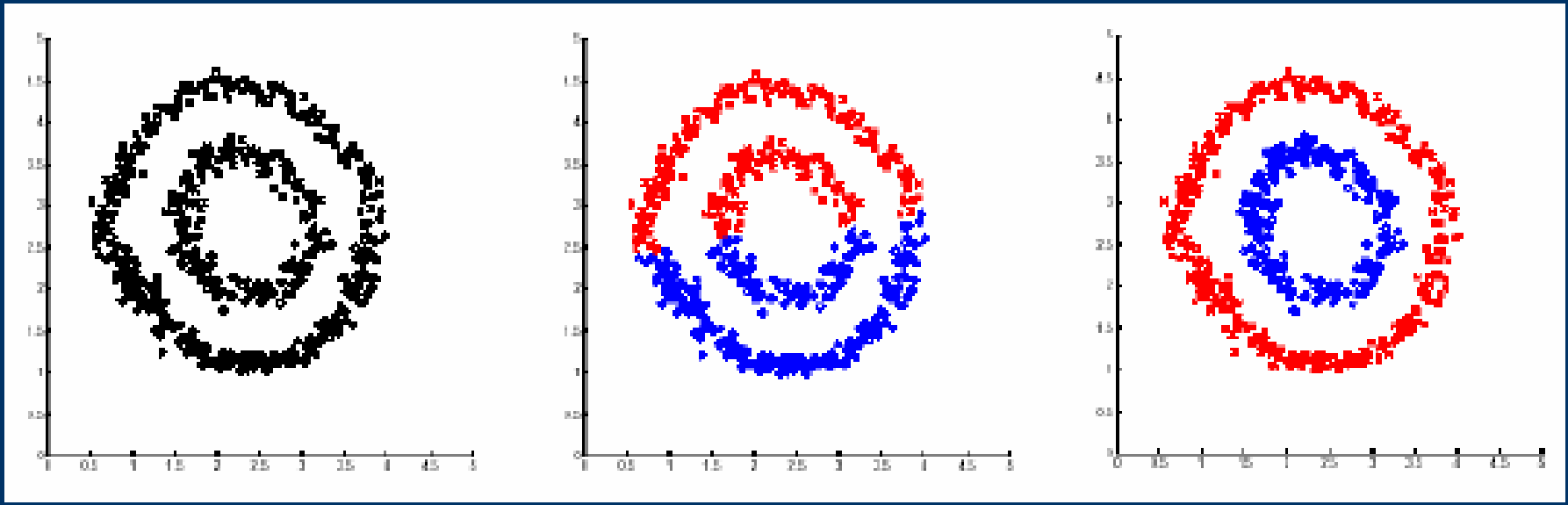
- La solution minimisant la fonction NCut est obtenue en résolvant l'équation

$$(D - W)\, y = \lambda\, Dy \quad \rightarrow \quad L = D^{\left(\frac{-1}{2}\right)} (D - W)\, D^{\left(\frac{-1}{2}\right)}$$

- Application des K-means sur les k vecteurs propres de L associés aux k plus grandes valeurs propres

Classification non supervisée

Spectral Clustering



Points originaux *K-means* *Spectral Clustering*

Classification non supervisée

Résultats

Méthode basée attributs

K-means	62.8 % de classification correcte
EM	62.6 % de classification correcte
Spectral Clustering	64.7 % de classification correcte

La classification semi-supervisée

Classification semi-supervisée

- Etiquetage de la totalité des points d'un jeu de données très long et parfois complexe (taille des échantillons, confusions)
- Classification supervisée
  1 hl – MLP : 97.3 %
- Classification non supervisée
  Spectral Clustering : 64.7 %

  => Classification semi-supervisée
- Possibilité d'étiqueter une partie de ces points (classes exactes connues pour une partie des points) afin d'apporter des connaissances *a priori*
- Utilisation de l'algorithme de S. Shortreed dans le cas semi-supervisé

Classification semi-supervisée

Présentation de l'algorithme semi-supervisé :

– Utilisation d'un jeu de données dont certains points sont étiquetés (au moins 1 par cluster)
– *But* : apprentissage d'une métrique pour donner du poids aux attributs discriminants

Constrained Cut :

$$\mathbf{CCut(C) = Cut(C) + \rho \sum_{\ell=1,..,n} I[\ell \text{ mal classés}]}$$
$$\mathbf{= \sum_{k=1,..,K} \left(\sum_{i \in Ck} \sum_{j \in Ck} S_{ij} \right) + \rho \sum_{\ell=1,..,n} I[\ell \text{ mal classés}]}$$

ρ : poids positif associé au terme de pénalisation
- si ρ=0 → CCut = Cut
- si ρ=∞ → Sélection des clusterings classifiant correctement les points
- Choix de ρ : nombre de données faible : ρ=1
  nombre de données important : ρ=1/n

Classification semi-supervisée

Clustering = segmentation de graphe

- Extension de cette idée pour application au CCut
- Ajout de K nœuds (chacun représentant un label pour chaque cluster)
- Chaque nœud est relié aux points possédant un label de classe similaire (par exemple : nœud 1 est relié aux points faisant partie du cluster 1)

Matrice de similarités :

- $G^{(1)}$: graphe original et $G^{(2)}$: graphe augmenté
- $S^{(1)}$: matrice de similarités originale et $S^{(2)}$: matrice de similarités augmentée
- i,j indices des points originaux dans $G^{(2)}$
- (n+1),..,(n+k) indices des nœuds supplémentaires dans $G^{(2)}$

$$S_{ij}^{(2)} = \begin{cases} S_{ij}^{(1)} & \text{si } i,j \leq n \\ \rho/2 & \text{si } i>n,\ j\leq n \text{ et } j \text{ est dans } C_i \\ \rho/2 & \text{si } j>n,\ i\leq n \text{ et } i \text{ est dans } C_j \\ 1 & \text{si } i=j > n \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

Classification semi-supervisée

						C1	C2
	Sij					0	ρ/2
						ρ/2	0
						0	ρ/2
						ρ/2	0
						0	0
C1	0	ρ/2	0	ρ/2	0	1	0
C2	ρ/2	0	ρ/2	0	0	0	1

Définition du CMNCut (Constrained Multi-Way Normalize Cut)

Matrice de similarités augmentée permet de faciliter le calcul du critère de coupe contraint CCut(C) en se ramenant à un critère de coupe Cut(C)

=> **$CCut(S^{(1)}) = Cut(S^{(2)})$**

=> **$CMNCut(G^{(1)},C) = MNCut(G^{(2)},C)$**

$$CMNCut(C) = \sum_{k=1}^{K} \sum_{k' \neq k} \frac{\sum_{i \in C_k, j \in C_{k'}} S_{ij} + \frac{\rho}{2} m_{C_{k'}, C_k} + \frac{\rho}{2} m_{C_k, C_{k'}}}{Vol(C_k) + \frac{\rho}{2} n_{C_k} + \frac{\rho}{2} (n_{C_k} - m_{+, C_k}) + \frac{\rho}{2} m_{+, C_k}}$$

Classification semi-supervisée

Extension de l'algorithme (1)

- S. Shortreed → utilisation de labels partiels
- Nous → utilisation de contraintes partielles (plus générales)
  - Must-Link pour (xi,xj) = ML i-j = (1,1)
  - Cannot-Link pour (xi,xj) = CNL i-j = (1,0)
  - Données sans connaissance *a priori* = 0.5

						ML2-4	CNL3-5
	Sij					0.5 1 0.5 1 0.5	0.5 0.5 1 0.5 0
ML2-4	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0
CNL3-5	0.5	0.5	1	0.5	0	0	1

Classification semi-supervisée

Extension de l'algorithme (1)

- Problème 1 :

  Plus il y a de contraintes, plus on ajoute de nœuds

  => matrice de similarités de taille importante

  => Temps de calcul longs

- Problème 2 :

  Problème au niveau du critère de CMNCut(C)

  → si termes de pénalités nulles :

$$CMNCut(C) = \sum_{k=1}^{K} \sum_{k' \neq k} \frac{\sum_{i \in C_k, j \in C_{k'}} S_{ij} + \frac{\rho}{2} m_{C_{k'}, C_k} + \frac{\rho}{2} m_{C_k, C_{k'}}}{Vol(C_k) + \frac{\rho}{2} n_{C_k} + \frac{\rho}{2} (n_{C_k} - m_{+, C_k}) + \frac{\rho}{2} m_{+, C_k}}$$

$$CMNCut(\boldsymbol{G}, \boldsymbol{C}) = \sum_{k=1}^{K} \sum_{k \neq k'} \frac{\sum_{i \in Ck, j \in Ck'} Sij}{Vol(C_k) + \rho\, n_{Ck}}$$

Or $$MNCut(\boldsymbol{G}, \boldsymbol{C}) = \sum_{k=1}^{K} \sum_{k \neq k'} \frac{\sum_{i \in Ck, j \in Ck'} Sij}{Vol(C_k)}$$

Donc : $$CMNCut(\boldsymbol{G}, \boldsymbol{C}) \neq MNCut(\boldsymbol{G}, \boldsymbol{C})$$

Classification semi-supervisée

Extension de l'algorithme (2)

- Pas d'ajout de nœuds dans la matrice de similarités
- Utilisation de contraintes partielles

Matrice de similarités :

- Cannot-Link (CNL) pour (xi,xj)
  - Sij = Sij -- et Sji = Sji --
  - Sii = Sii ++ et Sjj = Sjj ++

- Must-Link (ML) pour (xi,xj)
  - Sij = Sij ++ et Sji = Sji ++
  - Sii = Sii -- et Sjj = Sjj --

=> Les premiers tests montrent que cette méthode permet d'obtenir une partition pour laquelle les contraintes sont respectées

Conclusion

En supervisée :

- 2 approches : - Approche basée attributs
  - Approche basée signaux
- Taux de bonne reconnaissance élevé

  => Information contenu dans les attributs (et les signaux) est suffisante pour permettre de discriminer les différentes espèces (sans sélection d'attributs)

  => Caractère discriminant des mesures utilisées

En semi-supervisée :

- Apport d'informations *a priori*
- Actuellement : - perfectionnement d'algorithmes semi-supervisés
  - intégration d'autres types d'informations provenant de l'expert

Perspectives

- Recherche de prototypes représentatifs de chaque classe pour réduction de la dimension
- Intégration de degrés de confiance pour les cellules étiquetées
- Estimation du nombre de classes
- Expérimentations :
    - Classification semi-supervisée sur des échantillons d'eau provenant de culture et du milieu naturel
    - Bases de données plus importantes
    - Plus grande diversité d'espèces
    - Etiquetage plus « propre » (camera)

Caillault, E., Hébert, P-A., Wacquet, G.: *Dissimilarity-based Classification of Multidimensional Signals by Conjoint Elastic Matching: Application to Phytoplanktonic Species Recognition*. In: 11th International Conference on Engineering Applications of Neural Networks. (2009)

Membres de l'équipe Extraction de l'Information et Apprentissage :

Hamad, D., Caillault, E., Hébert P-A.

Classification semi-supervisée

2 mesures sur le clustering :

– Mesure de qualité du clustering

- Borne inférieure théorique du MNCut :

$$\mathbf{MNCut} \geq \mathbf{K} - \sum_{k=1,..,K} \lambda_k$$

où $1=\lambda 1 \geq \lambda 2 \geq \ldots \geq \lambda n \geq -1$ sont les valeurs propres de la matrice Laplacienne

- Définition du gap :

Différence entre MNCut observé et la borne inférieure théorique, donc :

$$\mathbf{gap} = \mathbf{MNCut(C)} - (\mathbf{K} - \sum_{k=1,..,K} \lambda_k)$$

Si Gap = 0 alors MNCut minimisé donc Clustering optimal

– Mesure de stabilité du clustering

Définition : un clustering est dit stable si tous les clustering jugés « bons » par le terme de qualité (le gap), sont proches de lui

Gap propre : $\Delta_K = \lambda_K - \lambda_{K+1}$

Classification semi-supervisée

Fonction coût utilisée :

Utilisation du gap (terme de qualité) régulé par le gap propre (terme de stabilité) avec α représentant le paramètre de régulation

$$J(\theta,C) = gap(\theta,C) - \alpha\Delta^2_K(\theta)$$

Qualité *Stabilité*

$$J(\theta,C) = MNCut(C,\theta) - (K-\sum_{k=1,..,K} \lambda_k(\theta)) - \alpha\Delta^2_K(\theta)$$

Minimisation de J :

- Objectif : apprentissage des paramètres qui minimisent J
- Méthode utilisée : descente du gradient