

SEGMENTAÇÃO DE CÉLULAS LEUCÊMICAS BASEADA NOS SISTEMAS DE CORES CMYK E L*A*B

LUIS H. S. VOGADO* , RODRIGO M. S. VERAS† , JOSÉ O. LINS‡ KELSON R. T. AIRES§ , VINICIUS P. MACHADO¶ , JAILSON N. LEOCADIO||

* *Universidade Federal do Piauí*
Teresina, Piauí, Brasil

Email: lhvogado@gmail.com, rveras@ufpi.edu.br, joselinsneto182@hotmail.com, kelson@ufpi.edu.br, vinicius@ufpi.edu.br, jailsonleocadio@gmail.com

Abstract— Leukemia is a type of cancer that originates in the bone marrow and is characterized by abnormal proliferation of white blood cells. To have correct identification of lymphoblasts, hematologists examine blood blades of the patient. To facilitate the work of these experts, a low cost and efficient solution is to use a system to examine the blood microscopic images. Segmentation is considered crucial in the development of these systems. In this paper, we propose an automatic segmentation technique that uses two-color systems and the clustering algorithm K-means. The proposed approach was evaluated on two public image databases with different characteristics. The Kappa values 0.9306 and 0.8715 obtained in the experiments for ALL-IDB 2 and BloodSeg datasets, respectively, outperform other methods in the literature.

Keywords— Automatic segmentation, leukemia, leukocyte, unsupervised, color system.

Resumo— A leucemia é um tipo de câncer que se origina na medula óssea e é caracterizado pela proliferação anormal de glóbulos brancos. Para que ocorra a identificação correta dos linfoblastos, os hematologistas examinam lâminas de sangue do paciente. A fim de facilitar o trabalho desses especialistas, uma solução de baixo custo e eficiente é a utilização de um sistema automático que examine as imagens microscópicas do sangue. A segmentação é considerada crucial no desenvolvimento desses sistemas. Neste trabalho, propomos uma técnica de segmentação automática que se utiliza de dois sistemas de cores e o algoritmo de agrupamento *K-means*. A abordagem proposta foi avaliada sobre duas bases de imagens públicas com características distintas. Os resultados obtidos nos experimentos possuem índice Kappa de 0,9306 na base de dados ALL-IDB 2 e 0,8715 na BloodSeg que superam outros métodos da literatura.

Palavras-chave— Segmentação automática, leucemia, leucócito, não-supervisionado, sistema de cor.

1 Introdução

A medula óssea possui uma predisposição para produzir praticamente todas as células sanguíneas, dentre elas as plaquetas, hemácias e leucócitos. Estes últimos participam ativamente do sistema imunológico humano, auxiliando na defesa do organismo no combate a invasores. As células-mães presentes na medula, igualmente denominadas células-tronco ou célula precursora, produzem em média 100 milhões de leucócitos por dia. Durante uma invasão ao corpo humano, essas células passam a produzir mais leucócitos, que o defendem realizando a fagocitose e estimulando a produção de anticorpos. Na Figura 1 temos um exemplo de um esfregaço de sangue de uma pessoa sem

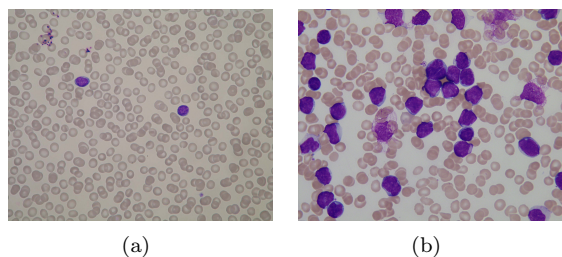


Figura 1: Amostra de esfregaço de sangue.

A leucemia é um tipo câncer que se origina

na medula óssea e é caracterizado pela proliferação anormal de glóbulos brancos. Ela pode ser classificada em leucemia aguda (LA) e leucemia crônica (LC); a diferença entre as duas é o nível de maturação das células neoplásticas. A LA gera um crescimento anormal de células em um curto espaço de tempo, sendo necessário o rápido início do tratamento. Ademais, apesar de atingir majoritariamente crianças, também pode afetar adultos com mais de 65 anos. A LC tende a atingir pessoas mais velhas, pois o crescimento ocorre de forma mais lenta em células maduras. Cada classificação subdivide-se em: linfóide e mieloide, denotando o tipo de célula da medula que tornou-se um linfócito. Dessa forma, há, ao todo, quatro tipos de leucemia: leucemia linfóide aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfóide crônica (LLC) e leucemia mieloide crônica (LMC) (Madhukar et al., 2014).

Atualmente existem diversos métodos para diagnosticar a leucemia. Para auxiliar nesse diagnóstico, podem ser utilizadas técnicas de processamento de imagens para aperfeiçoar informações visuais, utilizando imagens como entrada para obter novas imagens como resultado. Aplicando essas técnicas, temos os sistemas de diagnóstico auxiliado por computador (CAD - *Computer Aided Diagnosis*), que atuam na área médica. Esses sistemas têm como objetivo contribuir para o traba-

lho dos médicos durante o diagnóstico, e no tratamento das doenças que necessitam de trabalho repetitivo no processo de análise (Doi, 2007). Existem diversos sistemas automáticos desenvolvidos, presentes na literatura. A Figura 2 aborda a metodologia geral dos sistemas automáticos existentes na literatura. A etapa de segmentação da imagem apresentada é um processo fundamental para o diagnóstico da doença, uma vez que todo o sistema de classificação da leucemia depende dessa etapa para conseguir extrair as características essenciais para se fazer uma excelente classificação. Uma das grandes dificuldades ao se realizar a segmentação em imagens de sangue, é a quantidade de elementos presentes nelas com tons semelhantes.

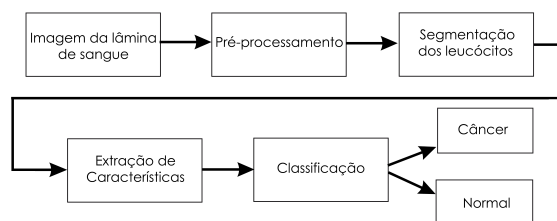


Figura 2: Fluxograma de uma metodologia geral para um sistema automático de detecção de leucemia.

A abordagem proposta nesse trabalho tem como objetivo a segmentação automática dos leucócitos através da utilização de dois sistemas de cor, o CMYK e o L^*a^*b . Esses dois sistemas foram escolhidos de acordo com as representações das suas componentes, o M do CMYK e o b do L^*a^*b . Para complementar o processo de segmentação, o algoritmo não-supervisionado *K-means* foi escolhido baseando-se no estado da arte.

O trabalho está dividido em seções que compreendem as etapas de segmentação e avaliação do método proposto. A seção 2 apresenta alguns trabalhos da literatura que serviram como base para a construção do método proposto neste trabalho, descrito na seção 3. Introduzimos a experimentação na seção 4 e os resultados e discussões na seção 5. Por fim, temos as conclusões e as perspectivas para trabalhos futuros na seção 6.

2 Trabalhos Relacionados

Diversos métodos de segmentação foram propostos ao longo do tempo, sendo que grande parte utilizam técnicas de agrupamento ou operações aritméticas e morfológicas. Dentre esses, alguns propõem solucionar o problema de diagnóstico da leucemia e outros apenas segmentar os leucócitos.

O método utilizado em Therra-Umpun (2005) tem como principal elemento o uso do *Fuzzy C-means clustering* (FCM) combinado com a morfologia matemática. Essa morfologia é utilizada na

etapa de pós-processamento para remover pequenas regiões que não pertencem a célula.

Madhloom et al. (2010) desenvolveram um método de segmentação automática baseado nas operações aritméticas combinadas com as técnicas de processamento de imagem. Para finalizar esse método, foi aplicado um filtro mínimo 3×3 para aumentar a intensidade do núcleo assim facilitando a aplicação de um limiar automático. A imagem resultante possui dois elementos, o núcleo e o plano de fundo.

O método proposto em Nasir et al. (2011) utiliza diversas abordagens com o objetivo de segmentar os leucócitos. A fim de melhorar os resultados da segmentação é aplicado um *Linear Contrast* para depois ser executado o agrupamento baseado no sistema de cores HSI. A utilização desse sistema de cores se dá devido a grande facilidade de trabalhar com os canais separadamente sem a preocupação de alterações nas outras partes. O algoritmo não supervisionado *K-means clustering* é aplicado para finalizar a segmentação.

O método de segmentação apresentado em Mohapatra et al. (2011) é dividido em duas etapas, a primeira consiste na utilização de uma variação do *Fuzzy C-means* e a segunda utiliza o KNN. O pré-processamento inicial retira o ruído com o auxílio de filtros e o sistema de cor RGB foi substituído pelo $L^*a^*b^*$, já que o mesmo reduz a dimensão de cor o que auxilia durante o processo de agrupamento.

Mohamed et al. (2012) focou na etapa de segmentação com a proposta de aperfeiçoar a técnica utilizada por Madhloom et al. (2010), fazendo a redução da dependência do contraste inicial da imagem, já que em algumas regiões das células os tons de cinza se assemelham, dificultando a etapa de segmentação. A verificação é feita de forma que a área de cada elemento da imagem que for maior que 50% do tamanho da hemácia permanece na imagem, enquanto as menores que 50% são retiradas, com isso, a acurácia obtida é maior.

Madhukar et al. (2012) utilizou o *K-means* com o sistema de cor L^*a^*b para segmentar as células da leucemia linfóide aguda. Durante o agrupamento o *K-means* divide as classes corretamente, já que alguns tons de cinza se assemelham muito e possuem uma taxa de erro maior.

A metodologia proposta em Nazlibilek et al. (2014) realiza os seguintes procedimentos: eliminação de ruído, realce de contraste, contagem de células, segmentação das células como sub-imagens na forma de sub-matrizes, classificação, tamanho e tipos de célula, além do armazenamento do valor da contagem, tamanho e tipos de células. O processo de classificação consiste em avaliar cinco propriedades: diâmetro, área, circularidade, não uniformidade do núcleo e o corpo compacto de seus contornos.

Em Vincent et al. (2015) os autores propõem

uma etapa de pré-processamento baseada no sistema L^*a^*b e a utilização do *K-means* faz com que a imagem seja dividida em três grupos baseados na informação de cor. Estes grupos são: leucócitos, hemácias e as plaquetas. Com a conclusão do processo de segmentação, foram aplicados um realce de contraste seguida da binarização com a utilização do método de Otsu.

Com base em algumas das características utilizadas por outros autores nos trabalhos relacionados, foi desenvolvida uma nova técnica com a proposta de segmentar os núcleos dos leucócitos nas imagens de sangue.

3 Abordagem Proposta

O método proposto visa segmentar leucócitos em bases de imagens de sangue distintas utilizando dois sistemas de cores, o *K-means* e operações morfológicas. A Figura 3 apresenta uma visão geral da metodologia e sua divisão em três etapas: pré-processamento, agrupamento e pós-processamento.

A etapa de pré-processamento se caracteriza pela conversão da imagem original para os sistemas de cores CMYK e L^*a^*b . Além da conversão, técnicas de processamento de imagens serão utilizadas a fim de melhorar a imagem do leucócito para evitar possíveis complicações na etapa de agrupamento. A escolha desses sistemas foi feita de forma empírica, em que avaliamos cada um dos sistemas existentes na literatura.

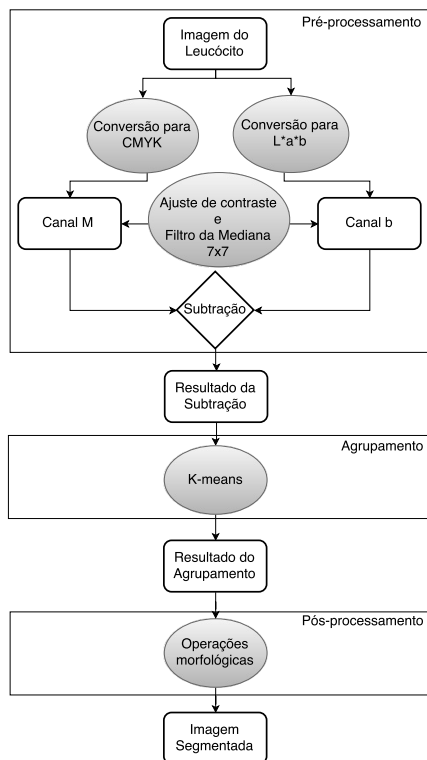


Figura 3: Fluxograma da abordagem proposta.

O sistema de cor CMYK é representado por

cores alternativas às primárias, são elas: ciano, magenta, amarelo e preto. Dentre essas, o magenta (M) é uma pigmento de cor que subtrai a luz verde da luz branca, portanto apenas as cores que contém essencialmente vermelho e azul são representadas nessa componente (Gonzalez and Woods, 2010). Podemos observar que esse componente preserva tons próximos ao roxo e o rosa. A sua representação é feita de forma que os maiores valores mais próximos do branco se concentram na região que contém o roxo mais escuro.

Ao aplicar diretamente o algoritmo de agrupamento no componente M, nota-se a forte presença de ruído na imagem, dificultando a identificação do núcleo. A fim de solucionar esse problema, propomos a utilização do componente b do sistema de cor L^*a^*b .

O espaço de cor L^*a^*b é um dos sistema de cor comumente utilizado na representação de imagens e foi criado após a teoria da oposição das cores. Segundo essa teoria, duas cores não podem ser azuis e amarelas ao mesmo tempo ou verdes e vermelhas. Observando algumas propriedades da componente b sobre as imagens de sangue, notamos que o núcleo adquire tons mais próximos do preto e o restante das imagens, tons de cinza mais claros.

É fundamental a aplicação de um ajuste de contraste em cada componente. Essa técnica consiste em melhorar a qualidade da imagens que geralmente é utilizada na etapa de pré-processamento. A melhora na qualidade se dá graças ao aumento no intervalo das intensidades. Além do ajuste, foi aplicado filtro da mediana com a janela 9×9 , deixando as regiões do núcleo com um tom mais uniforme, auxiliando no agrupamento. Esse filtro é frequentemente utilizado no intuito de suavizar ruído do tipo impulsivo.

A subtração dessas duas componentes após o pré-processamento inicial resulta na eliminação das hemácias e parte do citoplasma presente na célula, restando apenas o núcleo do leucócito e resquícios dos outros elementos existentes na imagem. Com a resultante da operação aritmética, o processo de agrupamento é inicializado e foram escolhidos quatro grupos que são representados por: núcleo, parte do citoplasma que restou após a subtração, plano de fundo e regiões que ficam entre citoplasma e núcleo.

O algoritmo de agrupamento não supervisionado utilizado é o *K-means*. A divisão dos grupos é feita com base nos tons de cinza das imagens. Tons mais próximos do branco são rotulados como núcleo. Os outros grupos são desconsiderados. Esse tipo de divisão é justificada pela representação do componente M.

A morfologia matemática foi utilizada como pós-processamento. Essa possui as mesmas características da teoria dos conjuntos e trabalha com imagens binárias e em tons de cinza. Definindo um

elemento estruturante, é possível realizar transformações nos *pixels* da imagem. As operações morfológicas elemento estruturante pode ser definido como um pequeno conjunto ou subimagem que altera as formas de outras imagens com o objetivo de encontrar propriedades específicas (Gonzalez and Woods, 2010). Existem diversas operações que combinam a teoria dos conjuntos com os elementos estruturantes, dentre elas tem-se: Erosão, Dilatação, Abertura, Fechamento e etc.

No trabalho apresentado, são utilizadas duas operações consideradas primitivas, a Dilatação e a Erosão. Ambas são fundamentais na construção de outras operações, como a Abertura que pode ser definida como uma Erosão seguida da Dilatação. A primeira operação utiliza o elemento de disco de tamanho 1 e o segundo usa o círculo do mesmo tamanho. O objetivo dessa etapa é a eliminação de pequenos elementos existentes após o agrupamento, que por sua vez não fazem parte do núcleo. Para certificar-se que esses os elementos sejam eliminados, mesmo após a aplicação dos operadores morfológicos, definimos um limiar onde as regiões que possuem um número menor que 800 *pixels* na sua constituição serão retirados da imagem final.

A imagem resultante do processo de segmentação contém apenas o núcleo do leucócito binarizado. A partir dessa imagem, um sistema de avaliação calculará métricas existentes na literatura, as quais abordaremos na próxima sessão.

4 Experimentos

Com o objetivo de analisar o método são utilizadas duas bases com características distintas e como método de avaliação foram utilizadas as seguintes medidas de desempenho: Precisão, Sensibilidade e o índice Kappa. A implementação do método foi feita no MATLAB, assim como todos os testes que serão apresentados.

4.1 Bases de Imagens

Foram utilizadas duas bases públicas para efetuar a avaliação das metodologias, a ALL-IDB 2 e BloodSeg. A ALL-IDB 2 (Figura 4(a)) contém uma célula por imagem e um total 260 imagens com resolução nativa de 2592x1944, capturada com uma câmera PowerShot G5.

Já a base BloodSeg (Figura 4(b)) foi disponibilizada por (Mohamed et al., 2012) e conta com 368 imagens. A técnica utilizada para obter as imagens foi a *Gismo Right* junto com um microscópio e uma câmera de cor CCD. A resolução é de 640x480 *pixels*.

4.2 Metodologia de Avaliação

Para avaliar a metodologia proposta, utiliza-se de um sistema que recebe como entrada a imagem

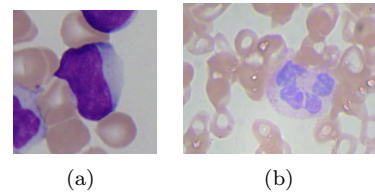


Figura 4: (a) ALL-IDB 2 e (b) BloodSeg

binária resultante do algoritmo e o padrão ouro também em binário. Com as essas imagens, são calculados valores a partir do resultado da matriz de confusão, são eles: Verdadeiro Positivo (VP), Falso Negativo (FN), Falso Positivo (FP) e Verdadeiro Negativo (VN) (Chimieski and Fagundes, 2013). Esse cálculo é feito comparando os *pixels* da imagem resultante do método proposto com os *pixels* do padrão ouro.

Os valores foram demarcados com cores para uma melhor representatividade do método (Figura 5). A taxa de VP é marcada com a cor violeta (Figura 5(d)) e representa os *pixels* que são demarcados como núcleo pelo algoritmo e no padrão ouro. Já o FN representado pela cor vermelha refere-se aos pixels que são rotulados como não núcleos pelo algoritmo e como núcleo no padrão ouro. Os valores de FP, que correspondem aos *pixels* de cor azul, são incorretamente informados como positivos, ou seja, rotulados como núcleo pelo algoritmo e não núcleo pelo padrão ouro. Por fim, temos o valor de VN que são os pixels corretamente informados como negativos, representados pela cor branca.

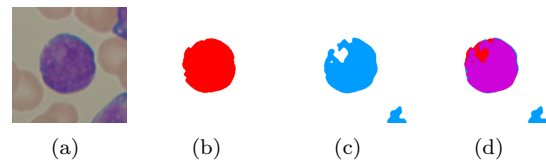


Figura 5: (a) Amostra de sangue, (b) Padrão ouro, (c) Método proposto e (d) Sobreposição de b e c. Esta imagem pertence a base ALL-IDB 2.

A partir desses valores, são calculadas as medidas de desempenho da metodologia. Dentre elas, a medida de Precisão (P) reflete a proporção de VP em relação a todas as predições positivas e seu cálculo é expresso pela Equação 1:

$$P = \frac{VP}{VP + FP} \quad (1)$$

Já a Sensibilidade (S) ou *Recall* é a divisão da taxa obtida de VP da imagem pelas condições em que o algoritmo marcou como FN somada ao valor de VP. A Equação 2 abaixo ilustra o seu cálculo.

$$S = \frac{VP}{VP + FN} \quad (2)$$

O índice Kappa (K) é usado como uma medida adequada de precisão, pois representa inteiramente a matriz de confusão. O seu cálculo é apresentado na Equação 3.

$$K = \frac{\theta_1 - \theta_2}{1 - \theta_2}, \quad (3)$$

Onde θ_1 e θ_2 são dados pelas Equações 4 e 5.

$$\theta_1 = \frac{VP + VN}{VP + VN + FP + FN}, \quad (4)$$

$$\theta_2 = \frac{\alpha + \beta}{\gamma^2}, \quad (5)$$

e α , β e γ são dados nas Equações 6, 7 e 8.

$$\alpha = (VP + FN) * (VP + FP), \quad (6)$$

$$\beta = (VN + FN) * (VN + FP), \quad (7)$$

$$\gamma = (VP + VN + FP + FN), \quad (8)$$

Ele leva em conta todos os elementos da matriz, ao invés dos valores que representam apenas as classificações verdadeiras, que por sua vez ocorrem quando o cálculo da precisão geral de classificação é realizado. O nível de acurácia foi classificada de acordo com (Landis and Koch, 1977), em: ruim, razoável, bom, muito bom e excelente (ver Tabela 1).

Tabela 1: Nível de acurácia de acordo com o índice Kappa.

Índice Kappa (K)	Qualidade
$K \leq 0,2$	Ruim
$0,21 \leq K \leq 0,4$	Razoável
$0,41 \leq K \leq 0,6$	Bom
$0,61 \leq K \leq 0,8$	Muito bom
$K \geq 0,81$	Excelente

O valor do índice Kappa é utilizado como principal meio de comparação entre os métodos apresentados na próxima seção.

5 Resultados e discussões

A fim de validar a técnica de segmentação proposta, são comparados os resultados das experimentações com diversos métodos de segmentação existentes na literatura. As Tabelas 2 e 3 apresentam os resultados das bases ALL-IDB 2 e BloodSeg, respectivamente.

Pode-se observar que dentre todos os métodos, apenas duas metodologias são consideradas excelentes nas duas bases. Os demais métodos apresentam resultados excelentes em uma das bases e excelente na outra de acordo com o índice K. São eles o método proposto e o trabalho de Nasir et al. (2011).

Tabela 2: Resultados da performance dos algoritmos de segmentação na base ALL-IDB 2.

	P (%)	S (%)	K
Therra-Umpoon (2005)	91,35	96,62	0,9247
Madhloom et al. (2010)	79,12	94,59	0,8310
Nasir et al. (2011)	96,00	88,70	0,9030
Mohapatra et al. (2011)	85,20	90,68	0,8528
Mohamed et al. (2012)	75,45	81,82	0,7621
Madhukar et al. (2012)	83,50	68,57	0,7186
Nazlibilek et al. (2014)	80,09	89,27	0,8132
Vincent et al. (2015)	75,63	85,17	0,7709
Método proposto	95,63	93,28	0,9306

Tabela 3: Resultados da performance dos algoritmos de segmentação na base BloodSeg.

	P (%)	S (%)	K
Therra-Umpoon (2005)	56,42	90,31	0,6248
Madhloom et al. (2010)	59,28	88,20	0,6649
Nasir et al. (2011)	87,77	89,77	0,8784
Mohapatra et al. (2011)	92,84	69,26	0,7765
Mohamed et al. (2012)	73,38	92,44	0,7880
Madhukar et al. (2012)	90,12	80,20	0,8361
Nazlibilek et al. (2014)	15,81	51,46	0,1893
Vincent et al. (2015)	81,39	94,12	0,8600
Método proposto	83,29	93,26	0,8715

Com índice Kappa de 0.9306 na base ALL-IDB 2, a metodologia proposta apresentou o melhor índice dentre todas as outras metodologias. No entanto, a sua Precisão e Sensibilidade ficaram abaixo dos resultados obtidos por outros métodos. Na base BloodSeg, o valor do índice que é de 0,8715, fica abaixo do valor obtido por Nasir et al. (2011), que por sua vez apresentou um valor de 0,8784.

A subtração dos componentes na etapa de pré-processamento colaborou com a alta taxa de acurácia do método fazendo com que o número de elementos como as hemácias e o citoplasma diminuíssem. Este efeito aumenta as chances do *K-means* rotular regiões do núcleo em um mesmo grupo. Uma das desvantagens é a inclusão de regiões do núcleo em outro grupo mesmo realizando a subtração, geralmente o mesmo grupo do citoplasma. Esse efeito faz com que muitos leucócitos não sejam segmentados adequadamente, havendo falhas na forma do núcleo. Estas se caracterizam como buracos na estrutura do núcleo ou nas bordas.

Durante a etapa de pós-processamento, a dilatação aplicada diminui as falhas, preenchendo alguns buracos, mas não todos, enquanto a erosão refina as bordas afetadas pela dilatação. Os elementos estruturantes de disco e círculo possuem tamanho 1 para não afetar o formato dos núcleos. A partir de certos experimentos realizados onde modificamos o tamanho dos elementos estruturantes, foram constatados resultados diferentes e foi selecionado o melhor dentre eles, no caso, o que possui tamanho 1.

O método de Therra-Umpoon (2005) obteve

excelentes resultados na base ALL-IDB 2, no entanto, esses valores caíram na base BloodSeg, problema apresentado em outros métodos como o trabalho de Madhloom et al. (2010) e Nazlibilek et al. (2014). Constatou-se que essa queda nos resultados da base BloodSeg é justificado pela conversão direta da imagem no formato RGB para o tons de cinza. Isso faz com que as hemácias e o citoplasma que possuem tons próximos aos do núcleo sejam rotulados no mesmo grupo. Uma solução apresentada na metodologia proposta deste trabalho foi a utilização de outros sistemas de cores. Isso porque a região do núcleo não possui tons de cinza semelhantes ao tons de outros elementos da imagem de sangue. Os demais métodos apresentaram dificuldades na base BloodSeg, graças ao seu baixo contraste da célula com o plano de fundo.

6 Conclusões e Trabalhos Futuros

A segmentação é considerada um passo importante no diagnóstico automático de diferentes sistemas computacionais. Constatou-se que diversos métodos da literatura apresentaram resultados promissores, entretanto necessitam de maior robustez para uma melhor performance em diferentes bases. A proposta apresentada nesse artigo descreve um novo método de segmentação das células leucêmicas com a utilização de duas bases com características distintas. A partir dos resultados obtidos pela metodologia, é possível validar a sua robustez perante outros trabalhos. No entanto, ainda existem problemas que devem ser melhorados para que as medidas de desempenho tenham melhores valores e consequentemente auxilie a etapa de classificação.

Como trabalhos futuros, propõe-se o desenvolvimento de um pós-processamento mais elaborado, para que parte dos dados rotulados erroneamente como citoplasma passem a pertencer ao núcleo. Além do melhoramento da técnica, pretende-se utilizar mais bases de imagens e desenvolver a etapa de classificação, para assim, continuar a criação de um sistema automático de diagnóstico.

Referências

- Chimieski, B. F. and Fagundes, R. D. R. (2013). Association and classification data mining algorithms comparison over medical datasets, *Journal of health informatics (JHI)* pp. 44–51.
- Doi, K. (2007). Computer-aided diagnosis in medical imaging: Historical review, current status and future potential, *Computerized Medical Imaging and Graphics* pp. 198–211.
- Gonzalez, R. C. and Woods, R. E. (2010). *Digital Image Processing*, 3. ed edn, Pearson Prentice Hall, São Paulo.
- Landis, J. R. and Koch, G. G. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data., *Biometrics* **33**(1): 159–174.
- Madhloom, H., Kareem, S. A., Ariffin, H., Zaidan, A. A., Alanazi, H. O. and Zaidan, B. B. (2010). An automated white blood cell nucleus localization and segmentation using arithmetic and automated threshold, *Journal of Applied Science* **10**(11): 956–966.
- Madhukar, M., Agaian, S. and Chronopoulos, A. T. (2012). New decision support tool for acute lymphoblastic leukemia classification, *Image Processing: Algorithms and Systems X; and Parallel Processing for Imaging Applications II* **8295**.
- Madhukar, M., Agaian, S. and Chronopoulos, A. T. (2014). Automated screening system for acute myelogenous leukemia detection in blood microscopic images, *IEEE Systems Journal* **8**(3).
- Mohamed, M., Far, B. and Guaily, A. (2012). An efficient technique for white blood cells nuclei automatic segmentation, *2012 IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics* pp. 220 – 225.
- Mohapatra, S., Samanta, S. S., Patra, D. and Satpathi, S. (2011). Fuzzy based blood image segmentation for automated leukemia detection, *Devices and Communications (ICDeCom)* pp. 1–5.
- Nasir, A., M.Y.Mashor and H.Rosline (2011). Unsupervised colour segmentation of white blood cell for acute leukaemia images, *2011 IEEE Int. Conf. Imaging Syst. Tech* pp. 142–145.
- Nazlibilek, S., Karacor, D., Ercan, T., Sazli, M. H., Kalender, O. and Ege, Y. (2014). Automatic segmentation, counting, size determination and classification of white blood cells, *Measurement* pp. 58–65.
- Therra-Umpun, N. (2005). Patch-based white blood cell nucleus segmentation using fuzzy clustering, *ECTI. Transa. Electrical Eng. Elect. Commun* **3**: 15–19.
- Vincent, I., Kwon, K.-R., Lee, S.-H. and Moon, K.-S. (2015). Acute lymphoid leukemia classification using two-step neural network classifier, *Frontiers of Computer Vision (FCV)* pp. 1–4.