Contagem Automática de Colônias em Placas de Petri Usando Técnicas de Visão Computacional

Valguima Victoria Viana Aguiar Odakura, Willian Paraguassu Amorim,
Arthur Melo Pinheiro, Kathiani Elisa de Souza
Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologias
Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD - Dourados, Brasil
Email: valguima.odakura@gmail.com, paraguassuec@gmail.com,
amelopinheiro@hotmail.com, kathianielisa2@hotmail.com

***Resumo*—A urocultura quantitativa é um teste laboratorial de suma importância para o estabelecimento de um diagnóstico preciso e para a orientação terapêutica da maior parte das infecções do trato urinário. Esta técnica de contagem é realizada manual e visualmente nos laboratórios do Hospital Universitário da XX. Entretanto, a utilização de contadores automáticos pode garantir maior precisão, repetitividade e padronização das contagens de colônias, acarretando em maior especificidade da urocultura. Portanto, o objetivo deste trabalho é desenvolver um sistema automático baseado em técnicas de processamento de imagens e visão computacional para contagem de colônias em placas de Petri.**

***Keywords*-Urocultura; Contagem automática; Segmentação de imagens.**

I. Introdução

A urocultura quantitativa é um teste laboratorial de suma importância para o estabelecimento de um diagnóstico preciso e para a orientação terapêutica da maior parte das infecções do trato urinário. A contagem de colônias no exame de urina confere mais especificidade para infecção urinária, uma vez que raramente amostras contaminadas produzem contagens tão expressivas de micro-organismos. Normalmente, esta técnica de contagem é realizada manual e visualmente. Entretanto, a utilização de contadores automáticos pode garantir maior precisão, repetitividade e padronização das contagens de colônias, acarretando em maior especificidade da urocultura [1]. Dessa forma, a realização da urocultura quantitativa auxiliada por técnicas de processamento de imagens e visão computacional, proposta por este trabalho, pode resultar em diagnósticos precisos e tratamentos mais eficazes na maior parte das situações clínicas, envolvendo as infecções do trato urinário.

Um sistema automático para urocultura quantitativa pode ser desenvolvido aplicando-se técnicas de processamento de imagens e visão computacional, a partir de imagens do meio de cultura, coletadas por uma câmera. Diversos trabalhos realizaram com sucesso a contagem de unidades formadoras de colônias. Osowsky et al. [1] utilizou a técnica de subtração de fundo, seguida de limiarização e por fim, a contagem de colônias. Para auxiliar no problema de iluminação foi utilizado um anel de LEDs ao redor da placa de Petri. No entanto, no trabalho de Higashino [2], o problema da iluminação foi tratado com técnicas mais avançadas de subtração de fundo. Masala et al. [3] utilizou a técnica de crescimento de regiões seguida de redes neurais e/ou K-NN (*K-Nearest Neighbour*) para classificação das colônias. Enquanto que Alves [4] utilizou transformada de *Hough Circle* para identificar as unidades formadoras de colônias e correlação para classificação das colônias.

A Figura 1 ilustra as colônias bacterianas após o período de cultivo. Em muitos casos as colônias se encontram em grande quantidade e aglomeradas, dificultando a contagem realizada pelo especialista, podendo causar imprecisão nos resultados.

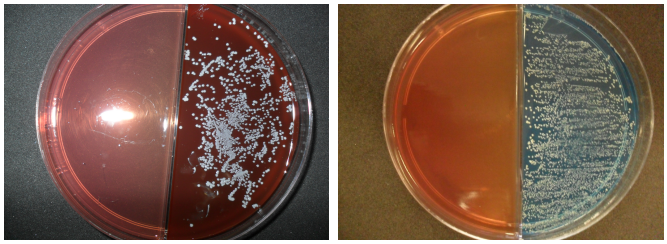


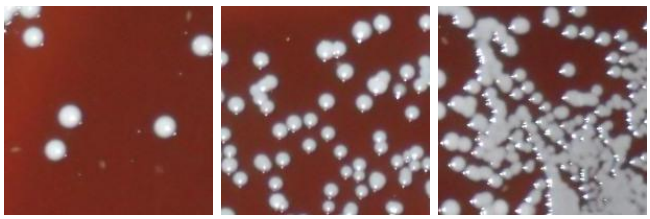
Figura 1. Imagem de colônias cultivadas em uma placa de Petri.

II. Situação atual: colônias não aglomeradas

Foi realizada a coleta de imagens no laboratório de análises clínicas utilizando a câmera digital 14MP 15x Zoom Óptico que fornece imagens com uma dimensão de 2.560 x 1.920 pixels no formato JPEG. Em seguida foi realizada a seleção das melhores imagens, resultando em 34 imagens. Esta seleção foi necessária para exclusão de imagens com ruídos e diferenças de iluminação. A partir destas 34 imagens foi gerado um banco de amostras, totalizando 1.254 amostras em uma escala de 200x200 pixels, com média de 1.489 colônias por amostra.

Para uma melhor análise dos algoritmos para contagem de colônias, as imagens foram divididas em três categorias. A categoria 1 possui imagens com poucas colônias, com o formato circular bem definido e separadas uma das outras, considerado pelo especialista com complexidade baixa de avaliação. A categoria 2, com complexidade média de avaliação, possui imagens com colônias localizadas muito próximas uma das outras e em alguns casos se encontram aglomeradas. E por fim a categoria 3, com complexidade alta de avaliação, possui imagens em que as colônias normalmente

se encontram aglomeradas. A Figura 2 ilustra um exemplo de imagem de cada categoria.



(a) (b) (c)

Figura 2. Classificação das imagens de colônias por complexidade de avaliação: (a) Categoria 1. (b) Categoria 2. (c) Categoria 3.

Para solucionar esses problemas decorrentes da contagem manual, foi proposta a utilização de duas técnicas de reconhecimento de padrões: *Template Matching* [5] e *Hough Circles* [6]. As duas técnicas foram aplicadas para imagens das três categorias apresentadas. Os resultados mostram que ambas as técnicas são promissoras para imagens da categoria 1.

Os resultados de contagem com a técnica de *Hough Circles* com os melhores parâmetros, para o F-score foram: na categoria 1 com F-Score(0,868), na categoria 2 com F-Score(0,723) e para a categoria 3, com F-Score(0,761).

Os resultados de contagem com a técnica de *Template Matching* com os melhores parâmetros, para o F-score foram: na categoria 1 com F-Score(0,7), na categoria 2 com F-Score(0,5) e para a categoria 3, com F-Score(0,4).

Através deste trabalho conclui-se que para a categoria 1 a técnica *Hough Circles* obteve desempenho ligeiramente melhor do que o *Template Matching* que foi a melhor técnica para contagem de colônias das imagens da categoria 2. Pode-se concluir também que os métodos propostos para a contagem foram satisfatórios nas categorias 1 e 2 e que podemos utilizar os diferentes algoritmos em diferentes categorias. Porém, obeservou-se que as colônias presentes na categoria 3 estão aglomeradas o que impossibilita sua contagem pelos métodos utilizados.

III. Próximos passos: colônias aglomeradas

Os próximos passos deste trabalho visam o estudo de técnicas para o problema de aglomeração das colônias e para a remoção de ruídos. A segmentação da imagem em regiões com colônias aglomeradas e não aglomeradas possibilitará a utilização de métodos de contagem adequados para cada uma das situações.

Como proposta de técnicas de segmentação serão utilizadas técnicas de subtração de fundo [7] e Transformada Imagem Floresta (IFT) [8]. Esperamos como resultado da segmentação obter informações que possibilitem a classificação do nível de complexidade da avaliação da contagem de colônias, ou seja, a imagem estará classificada entre as categorias 1, 2 ou 3. Para a parte da imagem classificada como sendo das categorias 1 e 2, podemos utilizar *Hough Circles* e *Template Matching*, com sucesso. Para as imagens da categoria 3 propomos experimentar a contagem através da análise da área da região de uma colônia. Isto pode ser feito, divindo a área total de pixels aglomerados pela área estimada de uma única colônia. Esta técnica apresentará uma resposta aproximada do número real de colônias, porém este valor aproximado é muito mais próximo do real do que o obtido com técnicas de classificação usuais.

IV. Conclusões

Algumas dificuldades como reflexos na placa de Petri e regiões de colônias aglomeradas, tem interferido significativamente na contagem de colônias utilizando as técnicas *Hough Circles* e *Template Matching*. Para solucionar os problemas de iluminação, será necessário criar um ambiente padrão para a captura das imagens que elimine qualquer tipo de interferência externa.

A solução da contagem de colônias para a categoria 3, que contém colônias aglomeradas, possibilitará o desenvolvimento do sistema de contagem automática de colônias que auxiliará o especialista nesta tarefa, obtendo um resultado mais confiável, apoiando o processo de tomada de decisão.

Referências

[1] J. Osowsky and H. R. Gamba, "Sistema automático para contagem de colônias em placas de petri," *Revista Brasileira de Engenharia Biomédica*, vol. 17, no. 33, 2001.

[2] W. A. Higashino, "Estudo comparativo de algoritmos de subtração de fundo em sequencias de imagens," Master's thesis, Instituto de Computação. Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2006.

[3] G. L. Masala, U. Bottigli, A. Brunetti, M. Carpinelli, N. Diaz, P. L. Fiori, B. Golosio, P. Oliva, and G. Stegel, "Automatic cell colony counting by region-growing approach," *Nuovo Cimento Della Società Italiana Di Fisica. C, Geophysics And Space Physics*, 2008.

[4] G. M. Alves, "Método fundamentado em processamento digital de imagens para automática de unidades formadoras de colônias," Master's thesis, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 2006.

[5] K. E. Souza, A. M. Pinheiro, W. P. Amorim, and V. Odakura, "Contagem automática de unidades formadoras de colônias de bactérias em placas de petri com o uso do algoritmo template matching," in *WVC 2012 - Workshop de Visão Computacional*, Goiânia, Brasil, 2004.

[6] A. M. Pinheiro, K. E. Souza, V. Odakura, and W. P. Amorim, "Contagem automática de colônias usando hough circles," in *WVC 2012 - Workshop de Visão Computacional*, Goiânia, Brasil, 2004.

[7] M. Piccardi, "Background subtraction techniques: a review," in *IEEE International Conference on Systems, Man and Cybernetics*, vol. 4. IEEE, Oct. 2004, pp. 3099–3104. [Online]. Available: http://dx.doi.org/10.1109/ICSMC.2004.1400815

[8] A. X. Falcão, J. Stolfi, and R. de Alencar Lotufo, "The image foresting transform: Theory, algorithms, and applications," *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, vol. 26, no. 1, pp. 19–29, Jan. 2004. [Online]. Available: http://dx.doi.org/10.1109/TPAMI.2004.1261076