



**UNIVERSIDADE
FUMEC**

FUNDAÇÃO MINEIRA DE EDUCAÇÃO E CULTURA
FACULDADE DE CIÊNCIA EMPRESARIAIS
MESTRADO PROFISSIONAL EM SISTEMAS DE INFORMAÇÃO E GESTÃO DO
CONHECIMENTO

DETECÇÃO DO BACILO DA TUBERCULOSE ATRAVÉS DO PROCESSAMENTO
E ANÁLISE DE IMAGEM MICROSCÓPICA

Vicente José Pinto

Belo Horizonte
2018

VICENTE JOSÉ PINTO

DETECÇÃO DO BACILO DA TUBERCULOSE ATRAVÉS DO
PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE IMAGEM MICROSCÓPICA

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Sistemas de Informação e Gestão do Conhecimento, da Universidade Fumec, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Sistemas de Informação e Gestão do Conhecimento.

Orientador: Prof. Dr. João Victor Boechat Gomide

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Mireille Ângela Bernardes Sousa

Área de concentração: Gestão de Sistemas de Informação e do Conhecimento.

Linha de pesquisa: Tecnologia e Sistemas de Informação.

Belo Horizonte

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P659d Pinto, Vicente José, 1977 -
Detecção do bacilo da tuberculose através do
processamento e análise de imagem microscópica / Vicente José
Pinto. – Belo Horizonte, 2018.
88 f : il. ; 29,7 cm

Orientador: João Victor Boechat Gomide
Coorientadora: Mireille Ângela Bernardes Sousa
Dissertação (Mestrado em Sistemas de Informação e
Gestão do Conhecimento), Universidade FUMEC, Faculdade de
Ciências Empresariais, Belo Horizonte, 2018.

1. Tuberculose - Brasil. 2. Processamento de imagens -
Técnicas digitais. 3. Diagnóstico por imagem - Brasil. I. Título.
II. Gomide, João Victor Boechat. III. Sousa, Mireille Ângela
Bernardes. IV. Universidade FUMEC, Faculdade de Ciências
Empresariais.

CDU: 65.01.001

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária-FUMEC



UNIVERSIDADE
FUMEC

Dissertação intitulada “DETECÇÃO DO BACILO DA TUBERCULOSE ATRAVÉS DO PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE IMAGEM MICROSCÓPICA” de autoria de Vicente José Pinto, aprovado pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof. Dr. João Victor Boechat Gomide – Universidade FUMEC
(Orientador)

Prof. Dra. Miryille Angela Bernardes Souza – Instituto Hermes Pardini
(Coorientadora)

Prof. Dr. Rodrigo Moreno Marques – Universidade FUMEC
(Examinador Interno)

Prof. Dra. Marlúce Assunção Oliveira – Fundação Ezequiel Dias - FUNED
(Examinador Externo)

Cláudio José August, Dr. – Fundação Ezequiel Dias - FUNED
(Consultor *Ad Hoc*)

Prof. Dr. Fernando Silva Parreiras
Coordenador de Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Informação e Gestão do
Conhecimento da Universidade FUMEC

Belo Horizonte, 20 de agosto de 2018.

RETÓRIA

Av. Alfredo Balduino, 3000 - Campus
30185-009 - Belo Horizonte, MG
Tel: 031 3377-0100/0101
www.fumec.br

CAMPUS

Rua Costa 270 - Unidade
30410-102 - Belo Horizonte, MG
Tel: 031 3342-8322
www.fumec.br

Vicente José Pinto

Dedico este trabalho, primeiramente, a Deus, por ter me guiado em bom caminho, iluminando-me nos momentos de dificuldade, trazendo-me paz e perseverança para conclusão deste trabalho; e aos meus pais, *in memoriam*, Selma Ribeiro e José Pinto.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar a oportunidade de tornar possíveis os meus sonhos e por me dar força para buscá-los, com muita perseverança, determinação e humildade.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. João Vitor Boechat Gomide e Prof.^a Dr.^a Mireille Ângela Bernardes Sousa, por acreditarem no meu trabalho, por ajudarem a definir o foco e, principalmente, pela parceria ímpar em todo o trabalho, à Prof.^a Júlia Epischina Engrácia de Oliveira, pela disponibilidade e acompanhamento no início deste trabalho. Ao prezado Evandro Bento, por ter confeccionado lâminas em alto padrão de qualidade e coloração, facilitando a condução deste trabalho.

À Prof.^a Dr.^a Ana Amélia Paolucci Almeida, pela cessão dos microscópios utilizados, à Sheila Rocha, pelo auxílio e tempo despendido na contagem humana e contagem automatizada.

Aos Pesquisadores da Fundação Ezequiel Dias, Dr.^a Marluce Assunção Oliveira e Dr. Claudio José Augusto, pelo apoio, parceria e a gentil disponibilidade das lâminas para a conclusão deste trabalho.

Ao revisor, Marcos Leandro, pela atenção e gentileza na revisão e padronização minuciosa deste texto.

À minha esposa, Priscila, pelo incentivo e apoio desta conquista, pela paciência das noites intermináveis de estudo e que sempre eram acompanhadas por um cafezinho fresco, providenciado na hora certa, também pelo carinho e compreensão incondicional nos momentos em que estive fechado e distante, trazendo tranquilidade e serenidade para que eu pudesse superar os momentos de maior dificuldade deste Mestrado.

Às minhas filhas, Julia e Maria, pelos sorrisos, pelo amor e carinho transmitidos gratuitamente, pelos abraços e beijinhos antes de irem dormir, pelos olhares que me diziam de forma singela “papai-herói” e que me enchiam de forças para superar as etapas mais críticas desta conquista.

Aos meus irmãos, pelo carinho, pela força, amizade, orações e compreensão pelas ausências em eventos de minha família tão querida.

Aos meus familiares, pelo apoio, disponibilidade, críticas e sugestões, as quais foram importantes para definir um norte para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos, em especial aos amigos do grupo “Quarteto Fantástico”, pelas conversas filosóficas e agradáveis, pelas parcerias, pelas confraternizações e descontrações.

À Universidade Fumec pela oportunidade e apoio na confecção deste trabalho.

Finalmente, a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a conclusão deste trabalho, pois esta conquista se deu pela compreensão, apoio e cada palavra amiga que me deram forças nos momentos certos.

“Os que são loucos o suficiente para pensar que podem mudar o mundo, são aqueles que realmente o fazem”.

Steve Jobs

RESUMO

Atualmente, mesmo com toda a evolução das tecnologias computacionais e com os avanços na área de análises clínicas e laboratoriais, o diagnóstico microbiológico da tuberculose pulmonar continua sendo trabalhoso. As técnicas de coloração para análise microscópica direta pouco evoluíram desde 1882, quando a principal e mais utilizada técnica de diagnóstico foi desenvolvida por Frans Ziehl e Frederic Neelsen. Esta técnica, que utiliza a fucsina fenicada e posteriormente o álcool-ácido, foi batizada com o nome de seus desenvolvedores de coloração de Ziehl-Neelsen. Estudos recentes apontam que apesar dos esforços dos governos mundiais, a tuberculose continua a ser uma das doenças que mais matam no mundo e por este motivo as nações vem se unindo para intensificar o tratamento e acompanhamento dos acometidos pela doença. O objetivo deste trabalho é propor um modelo para identificação do bacilo da tuberculose por meio de técnicas de Processamento Digital de Imagens (PDI), possibilitando assim um diagnóstico mais rápido e eficiente da doença e com isso mais agilidade no início do tratamento e acompanhamento do enfermo. Para validar o modelo proposto será desenvolvido um protótipo que irá processar e analisar as imagens de amostras já preparadas através da coloração de Ziehl-Neelsen e que serão capturadas digitalmente através de microscópio com lente objetiva de 100X. A biblioteca de visão computacional OpenCV será utilizada para o desenvolvimento deste protótipo. O resultado obtido com a finalização do projeto proposto é modelo de PDI que possibilite o diagnóstico mais eficaz da tuberculose Pulmonar por observação direta do bacilo.

Palavras-chave: *Mycobacterium tuberculosis*. Tuberculose pulmonar. Ziehl-Neelsen. Microscopia automatizada. Baciloscopia automatizada. Imagem Digital. Processamento Digital de Imagem. Diagnóstico por imagem.

ABSTRACT

Currently, even with all the evolution of computational technologies and advances in clinical and laboratory analysis, the microbiological diagnosis of pulmonary tuberculosis continues to be laborious. The staining techniques of direct microscopic analysis have not evolved since 1882, when the main and most used diagnostic technique was developed by Frans Ziehl and Frederic Neelsen. This technique, which uses phenolic fuchsin and later alcohol-acid, was named after its developers of Ziehl-Neelsen coloring. Recent studies indicate that despite the efforts of the world governments, tuberculosis continues to be one of the diseases that kill the most in the world and for this reason the nations are coming together to intensify the treatment and follow-up of those affected by the disease. The objective of this work is to propose a model for identification of the tuberculosis bacillus by means of Digital Image Processing techniques, thus enabling a faster and more efficient diagnosis of the disease and with this more agility at the beginning of the treatment and monitoring of the patient. For validate the prototype that will process and analyze the images of samples already prepared through the Ziehl-Neelsen coloration and that will be captured digitally through a microscope with objective lens of 100X. The library of computer vision OpenCV that will be used in the development of this prototype. The expected result with the finalization of the proposed project is a PDI model that obtains the most effective diagnosis of pulmonary tuberculosis by bacillus direct observation.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*. Pulmonary Tuberculosis. Ziehl-Neelsen. Automated microscopy. Automated bacilloscopy. Digital Image. Digital Image Processing. Diagnostic by image.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Países com maior incidência de tuberculose no mundo em 2015	22
Figura 2 – Exemplo bacilo tuberculose em forma de bastonetes	24
Figura 3 – Lâmina corada pela técnica de coloração Ziehl-Neelsen e bacilos da tuberculose pulmonar aglomerados	25
Figura 4 – Níveis de correção óptica para aberração em lentes objetivas: a) objetivas acromáticas; b) objetivas semiacrobáticas; c) objetivas apocromáticas.	26
Figura 5 – Funcionamento microscópico óptico com iluminação Köhler	27
Figura 6 – Esquema do interior de um MET	28
Figura 7 – Esquema do interior de um MEV.....	29
Figura 8 – Formiga pronta para ser visualizada e analisada através da MEV	29
Figura 9 – Estrutura matricial da imagem.....	32
Figura 10 – Modelo RGB.....	33
Figura 11 – Etapas do sistema de Processamento Digital de Imagens	36
Figura 12 – Histograma de níveis de cinza da imagem de Lena: a) Imagem Original; b) Imagem com níveis de cinza corridos automaticamente utilizando ferramenta GIMP	37
Figura 13 – Aplicação de brilho em uma imagem: a) Imagem Original; b) Imagem com correção de brilho	38
Figura 14 – Operação ponto a ponto com transformada T, aplicada ao contraste da imagem	38
Figura 15 – Operação com vizinhança utilizando mascara 3x3	39
Figura 16 – Operação com filtro mediana	40
Figura 17 – Exemplo Filtro Passa Alta: a) Imagem original; b) Imagem com Filtro Passa Alta aplicado.....	41
Figura 18 – Exemplo de realce e detecção de bordas: a) imagem original; d) realce de bordas utilizando operadores de Prewitt; c) realce de bordas utilizando operadores de Sobte.....	42
Figura 19 – Corte utilizando o valor 127 para Limiarização (<i>Thresholding</i>)	43
Figura 20 – Resultados após aplicação de Limiarização (<i>Thresholding</i>): a) imagem de uma partícula de poeira urbana; b) histograma de nível de cinza; c) correlação em função do nível <i>Thresholding</i> ; d) a imagem resultante para um limite de corte 186.....	44
Figura 21 – Imagem segmentada do satélite LandSat.....	45
Figura 22 – Exemplo adaptador pelo autor, de vale gerado pelo <i>Watershed</i>	45

Figura 23 – Exemplo de criação máscara para Binarização local	46
Figura 24 – Resultado de método de Binarização Local: a) Imagem original; b) imagem binarizada através do método Binarização Local	46
Figura 25 – Resultado do classificador (MoG)	50
Figura 26 – Exemplo de objetos com limites detectados	51
Figura 27 – Fases do processamento automático de imagens para detecção do bacilo da TB	52
Figura 28 – Resultado da segmentação ELM: a) Imagem original; b) filtro de cor com base em CY; c) agrupamento de médias k=2	53
Figura 29 – Resultado da segmentação: d) filtro mediano; e) filtro “Region Growind”	54
Figura 30 – Representação do raio e centroide de um bacilo	54
Figura 31 – a) bacilos encontrados; b) possíveis bacilos	55
Figura 32 – Detecção usando a rede HMLP-ELM: a) CoD = 71,79%; b) CoD = 69,70%	55
Figura 33 – Saídas das etapas da <i>Design Science Research</i>	59
Figura 34 – Imagem microscópica capturada por iPhone, em microscópio com lentes ocular 10x e objetiva 100x.....	60
Figura 35 – a) Canal Blue da imagem e resultado da equalização por Histograma; b) Canal Green da imagem e resultado da equalização por Histograma; c) Canal Red da imagem e resultado da equalização por Histograma.....	61
Figura 36 – a) Imagem adquirida do canal Green; b) imagem com limiarização	61
Figura 37 – Tela de parametrização e processamento de imagem.....	62
Figura 38 – a) Imagens originais; b) imagens com <i>threshold</i> ; c) imagens processadas	63
Figura 39 – Fases do desenvolvimento do protótipo.....	64
Figura 40 – Representação gráfica do espaço de cor HSV	65
Figura 41 – Etapas de um sistema de Processamento de imagens.....	65
Figura 42 – Imagem microscópica, captura por câmera, <i>USB câmera de vídeo CCD biológico microscópio</i> , em microscópio com lentes ocular 10x e objetiva 100x	66
Figura 43 – Processamento e segmentação Imagem capturada por iPhone 7	67
Figura 44 – Imagem processada e segmentada, capturada por, <i>USB câmera de vídeo CCD biológico microscópio</i>	68
Figura 45 – a) Imagens originais b) imagens segmentadas por limiarização c) imagens processadas e analisadas	69
Figura 46 – Áreas e os perímetros dos POIs encontrados.....	70

Figura 47 – Áreas e os perímetros dos POIs encontrados.....	72
Figura 48 – Áreas e os perímetros dos POIs encontrados.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação entre a contagem manual versus detecção automática do bacilo de TB (cada observação foi realizada três vezes)	53
Tabela 2 – Contagem por especialista vs contagem pelo protótipo	73
Tabela 3 – Contagem por especialista vs contagem pelo protótipo	74
Tabela 4 – Câmera 1.....	74
Tabela 5 – Câmera 2.....	75
Tabela 6 – Lâmina 1 (+ + +)	75
Tabela 7 – Lâmina 2 (+ +)	76

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Estratégia de busca para RSL.....	49
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAAR	Bacilos Álcool-Ácido Resistentes
BCG	Bacillus Calmette-Guérin
BK	Bacilo de Koch
BMP	<i>Bitmap</i>
CImg	<i>Cool Image</i>
CoD	Confiança de Detecção
CPU	<i>Central Processing Unit</i>
DSR	<i>Design Science Research</i>
ELM	<i>Extreme Learning Machine</i>
FUNED	Fundação Ezequiel Dias
GIF	<i>Graphics Interchange Format</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> (Vírus da Imunodeficiência Humana)
HMLP	<i>Hybrid Multilayered Perceptron</i>
INPI	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
JPEG	<i>Joint Photographic Experts Group</i>
LIS	<i>Laboratory Information System</i>
MET	Microscópio Eletrônico de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MoG	<i>Mixture of Gaussian</i>
NIH	National Institutes of Health
NLM	National Library of Medicine
OMS	Organização Mundial de Saúde
OpenCV	<i>Open Source Computer Vision</i>
PDI	Processamento Digital de Imagens
PMC	PubMed Central®
POI	<i>Point of interest</i>
RMS	The Royal Microscopical Society
RSL	Revisão Sistemática de Literatura
SUS	Sistema Único de Saúde
TB	Tuberculose
TIFF	Tag Image File Format
ZN	Ziehl-Neelsen

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Fundamentação	16
1.2 Problema	17
1.3 Objetivos	18
1.3.1 Objetivo geral.....	18
1.3.2 Objetivos específicos	18
1.4 Justificativa	18
1.5 Estrutura do projeto	19
2 REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1 Tuberculose pulmonar	21
2.2 Diagnóstico	23
2.3 Baciloscopia	24
2.4 Técnicas de microscopia	25
2.5 Análise e Processamento Digital de Imagens	30
2.5.1 Técnicas de PDI	36
2.5.2 Bibliotecas	47
3 TRABALHOS RELACIONADOS AO USO DE PDI E TUBERCULOSE	49
4 METODOLOGIA	56
4.1 Aquisição	66
4.2 Pré-processamento	67
4.3 Segmentação	67
4.4 Extração de características	68
4.5 Reconhecimento e interpretação	69
4.6 Resultado	70
5 RESULTADOS	71
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
6.1 Objetivos alcançados	78
6.2 Perspectivas futuras	79
REFERÊNCIAS	80
APÊNDICE A – Lista de 10 imagens da Camera1-Lamina1	85
APÊNDICE B – Lista de 10 imagens da Camera1-Lamina2	86
APÊNDICE C – Lista de 10 imagens da Camera2-Lamina1	87

1 INTRODUÇÃO

1.1 Fundamentação

A tuberculose, doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, continua sendo um importante problema de saúde pública. Apesar da taxa de mortalidade dos acometidos pela doença estar caindo, a doença ainda é responsável por milhares de mortes, sendo uma das 10 (dez) principais causas de óbito em todo o mundo (WHO, 2016). Mesmo com toda a evolução da humanidade e o avanço das tecnologias computacionais, no que se refere ao diagnóstico da tuberculose pulmonar por observação direta do bacilo nas amostras biológicas, houve pouca evolução. A baciloscopia direta assume importância não apenas no diagnóstico da doença, mas também no acompanhamento dos indivíduos acometidos pela tuberculose.

Estudos apontam que, em 2015, havia cerca de 10,4 milhões de novos casos (incidentes) de tuberculose em todo o mundo, dos quais 5,9 milhões (56%) estavam entre os homens, 3,5 milhões (34%) entre mulheres e 1,0 milhão (10%) entre crianças. Indivíduos infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV¹) representavam 1,2 milhões (11%) de todos os novos casos de tuberculose. Seis países representavam 60% dos novos casos: Índia, Indonésia, China, Nigéria, Paquistão e África do Sul (WHO, 2016).

Apesar de alguns progressos para novos diagnósticos, novas drogas e vacinas, a pesquisa e desenvolvimento de novas técnicas e metodologia para diagnóstico e tratamento da tuberculose ainda permanecem subfinanciados. Espera-se que até 2020 tenha-se alcançado uma redução de 35% no número absoluto de mortes por tuberculose (WHO, 2016). Entretanto, percebe-se uma grande quantidade de pessoas sem o diagnóstico adequado e, um outro grupo de indivíduos, que mesmo diagnosticados, não realiza o tratamento específico. Tecnologias de ponta para diagnóstico – culturas em meio líquido automatizadas e técnicas moleculares – não são amplamente empregadas, pois ainda são caras.

Um dos métodos de detecção direta do agente da tuberculose pulmonar é feito manualmente com a utilização de microscópios óticos para a identificação do bacilo.

¹ Abreviatura do termo inglês *Human Immunodeficiency Virus*, traduzido para português como Vírus da Imunodeficiência Humana.

Esta análise é demorada, tediosa e requer especialistas altamente treinados, pois os bacilos da tuberculose, no momento da análise microscópica, mesmo utilizando técnicas de pigmentação através da coloração, nem sempre são encontrados em grandes quantidades, além disso, são de difícil detecção quando a doença está em seu estágio inicial. Especialistas laboratoriais podem demorar até 40 minutos para conseguirem concluir a análise de uma única amostra, uma vez que o Ministério da Saúde, recomenda que sejam analisados no mínimo 100 campos microscópicos, nos quais sejam visualizados elementos celulares de origem pulmonar, para que se tenha uma boa sensibilidade no exame (BRASIL, 2005).

Diante do exposto, existe uma grande lacuna a ser explorada na criação de métodos automáticos de baixo custo, para detectar infecções causadas por micobactérias, tuberculose e outras formas de infecções, que possam ajudar na agilidade na detecção precoce da doença, podendo diminuir consideravelmente o início do tratamento, o monitoramento terapêutico de pacientes em tratamento com antituberculostáticos e, conseqüentemente, a morte de milhares de pessoas em todo o mundo.

Atualmente a utilização de técnicas de análise e Processamento Digital de Imagens (PDI) para identificar objetos é frequente. Bons exemplos desta utilização são a identificação biométrica através de Impressão Digital, Reconhecimento Facial, Geometria da Mão, Iris (BOECHAT, 2008) , chegando à criação de filmes através da captura de movimentos, utilizando processamento de imagens.

Diante da epidemia mundial da Tuberculose (TB) Pulmonar presenciada atualmente, conforme a Organização Mundial de Saúde (OMS) vem relatando nos últimos anos, juntamente com a evolução das técnicas de processamento de imagem digital, este trabalho propõe o desenvolvimento de um modelo, baseado em técnicas de Processamento Digital de Imagens, que deverá identificar os Bacilos Álcool-Ácido Resistentes (BAAR) a partir de imagens microscópicas adquiridas a partir de amostras preparadas em lâminas e coradas através da técnica de coloração de Ziehl-Neelsen, realizando o diagnóstico automatizado de forma rápida, eficiente e precisa.

1.2 Problema

Com o intuito de obter agilidade na detecção e diagnóstico da Tuberculose (TB) Pulmonar e, conseqüentemente, iniciar precocemente o tratamento e assim contribuir

para a redução de mortalidade pela doença, o estudo proposto pretende responder a seguinte questão: **como o processamento e análise digital de imagens microscópicas conseguirá agilizar a detecção do bacilo da Tuberculose (TB) Pulmonar?**

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo propor uma metodologia baseada em técnicas de Processamento Digital de Imagens, que será utilizada em um protótipo de software, para tornar mais rápido e eficiente o diagnóstico da tuberculose, diminuindo os riscos de falhas humanas nas análises microscópicas realizadas manualmente por especialistas laboratoriais.

1.3.2 Objetivos específicos

São objetivos específicos deste trabalho:

- a) analisar técnicas de Processamento Digital de Imagens (PDI);
- b) propor um modelo de PDI que seja capaz de processar, analisar e identificar o bacilo da tuberculose;
- c) desenvolver um protótipo utilizando linguagem C# e biblioteca Emgu CV para esta finalidade;
- d) validar o modelo proposto através do protótipo que será desenvolvido; e
- e) ajustar o modelo, se necessário, para obter uma boa acurácia.

1.4 Justificativa

O trabalho proposto torna-se justificável pela sua importância e contribuição para a sociedade, instituições e organizações de saúde que tenham interesse em agilizar a detecção de Bacilos Álcool-Ácidos Resistentes, mais especificamente da tuberculose pulmonar, através do PDI. Deverá contribuir ainda com pesquisadores e

organizações do ramo tecnológico que tenham o interesse no diagnóstico automatizado do bacilo da TB pulmonar.

Apesar da importância da detecção e tratamento da doença e sua gravidade, que foi responsável por cerca de 1 milhão de mortes em 2015 (WHO, 2015), não foi encontrada uma abordagem que agilizasse o diagnóstico por observação direta do bacilo, com eficiência e de forma automatizada, conforme pesquisa realizada e demonstrada no Quadro 1 do capítulo 3.

Acredita-se que através deste estudo, e com o algoritmo ideal no processamento e análise das imagens digitais microscópicas, torne-se possível agilizar o diagnóstico da TB pulmonar em amostras analisadas. Este estudo foi fundamentado com a perspectiva de desenvolvimento de um software utilizando a biblioteca Emgu CV através da linguagem de programação .Net C#, onde será possível desenvolver um algoritmo que deverá analisar não só uma, mas centenas de imagens da mesma amostra, para realização do diagnóstico automatizado da TB pulmonar com maior rapidez e eficiência que as analisadas atualmente por microscopia ótica convencional.

1.5 Estrutura do projeto

O capítulo 1 é dividido nas seções introdução, identificação do problema abordado, objetivos gerais e específicos, justificativa do projeto de dissertação e, por último, sua estrutura. Na introdução é apresentada a forma como é realizada a detecção e o diagnóstico da TB pulmonar e também estatísticas relacionadas a epidemia de tuberculose no plano nacional e mundial. A finalidade é contextualizar e fornecer informações gerais sobre o problema abordado nessa dissertação.

O capítulo 2 contém o referencial teórico para esse trabalho. Nele são discutidas: a patologia da tuberculose pulmonar; a forma como é realizado o seu diagnóstico atualmente; assim como questões relacionadas à microscopia e visualização dos bacilos, com microscópio; e técnicas de processamento de imagens, candidatas a serem utilizadas para o desenvolvimento desse projeto. Esse conteúdo forma a base para a elaboração do modelo proposto nesta dissertação e dá suporte a esta pesquisa, tanto do ponto de vista teórico quanto prático.

O capítulo 3 apresenta a Revisão Sistemática de Literatura (RSL), realizada para identificar modelos e técnicas que tenham semelhanças ao trabalho aqui

proposto, de identificação do bacilo de tuberculose a partir de imagens digitais, utilizando técnicas de PDI. Neste capítulo são apresentados ainda os resultados obtidos pelos autores. De todos os trabalhos pesquisados, apenas três utilizam o PDI para identificação da tuberculose, todavia, com um fluxo de trabalho diferente do apresentado nesta dissertação.

O capítulo 4 discute a metodologia adotada para elaboração do modelo e protótipo desta dissertação. O protótipo utiliza a biblioteca aberta OpenCV para detectar e contar os bacilos da tuberculose.

O capítulo 5, por sua vez, traz os resultados obtidos com o software desenvolvido, com experimentos realizados em lâminas contendo amostras de pacientes com e sem bacilos da tuberculose. Enquanto o capítulo 6 debate as conclusões e as perspectivas abertas por essa dissertação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Tuberculose pulmonar

A tuberculose pulmonar é uma infecção crônica cujo principal sintoma é a tosse seca ou produtiva, sendo o homem o principal reservatório. É causada por bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, o qual é constituído de um grupo de espécies geneticamente muito semelhantes, mas com características fenotípicas diversas. De todas as espécies do complexo, a espécie *Mycobacterium tuberculosis* é a mais estudada (FORRELLAD et al., 2013).

A palavra "tuberculose" vem do latim *tuberculum*, diminutivo de *tuber* que significa "tumor", referindo-se aos nódulos que a doença causa no pulmão. O *Mycobacterium tuberculosis* surgiu há milhares de anos, isto é sabido pelo fato desta bactéria ter sido encontrada em autopsias de múmias egípcias, o que comprova sua existência milenar. Foi descrito por Robert Koch, bacteriologista alemão, em 1882, sendo, por isso, também chamado de Bacilo de Koch (BK), em sua homenagem (DANIEL, 2006)

A doença causada pelo bacilo de Koch é altamente contagiosa. Em 2015 cerca de 10,4 milhões de pessoas em todo o mundo estavam infectadas pelo *Mycobacterium tuberculosis* (WHO, 2016). A bactéria é transmitida pelo ar, por meio de aerossóis provenientes de fala, tosse ou espirro de indivíduos infectados, que podem permanecer dispersos no ar, durante horas. Uma pessoa, ao respirar o ar contaminado, inala as micobactérias, que se instalam nos pulmões. Quando a infecção está em estado latente e o indivíduo ainda não apresenta sintomas, a transmissão não ocorre. A tuberculose pode permanecer oculta, sem causar dano algum por vários anos e, eventualmente, nunca causar doença em pessoas saudáveis. Em poucos casos, a doença se manifesta logo no primeiro contato do corpo com a bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (TB, 2016).

A tuberculose é responsável por altas taxas de morbidade e mortalidade. Em 2015 ocorreram aproximadamente 1,4 milhões de mortes pela doença, e outras 0,4 milhões de mortes resultantes da tuberculose entre pessoas portadoras do vírus HIV (WHO, 2016). Mesmo com o índice de mortalidade caindo entre 2000 e 2015, a doença foi uma das dez principais causas de morte no mundo em 2015. Com alta taxa

de incidência, conforme apresentado na figura a seguir (FIG. 1), a tuberculose é responsável por mais óbitos que o HIV e a malária juntos.

Figura 1 – Países com maior incidência de tuberculose no mundo em 2015



Fonte: elaborado pelo autor, com base em OMS (2016).

A tuberculose tem cura, mas o sucesso do tratamento da doença está diretamente associado à conscientização do paciente sobre a gravidade da doença, a necessidade de continuidade do tratamento prescrito e, principalmente, a importância da regularidade no uso dos medicamentos. Altas taxas de cura ocorrem quando os fármacos específicos são indicados corretamente, de acordo com o perfil de suscetibilidade da bactéria, são administrados em doses corretas, pelo tempo adequado e com adesão do paciente até o fim do esquema prescrito, sem abandono do tratamento. Com a junção desses fatores supracitados, pode-se alcançar taxas de até 95% de cura (BRASIL, 2011; HABAHY et al., 2017).

A prevenção da doença pode ser feita pela vacinação com a vacina *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG), disponibilizada de forma gratuita pelo Sistema Único de Saúde (SUS), pelo diagnóstico e tratamento precoces e pelo tratamento das formas latentes de infecção. A vacinação previne formas graves da doença, como por exemplo a meningite, mas tem pouca eficácia contra a tuberculose pulmonar. A infecção na sua forma latente pode ocorrer em função do contato com indivíduos sintomáticos. Neste caso, o tratamento pode ser instituído para prevenir o

desenvolvimento da doença, em especial quando há outros fatores de risco, como a imunossupressão (PEREIRA et al., 2007).

2.2 Diagnóstico

A diagnóstico clínico de tuberculose pode ocorrer através do exame físico, considerando os sinais e sintomas apresentados pelo paciente e através dos sons pulmonares produzidos durante a respiração. Entretanto, o diagnóstico clínico precisa ser confirmado por testes laboratoriais. Testes complementares de imagem, como o raio-X de tórax, também podem ser realizados.

O diagnóstico laboratorial da tuberculose pulmonar pode ser realizado pela baciloscopia, teste rápido molecular e cultura, na qual se tem o isolamento e identificação da micobactéria. A cultura é o padrão ouro de diagnóstico, mas é limitada em função do crescimento lento das micobactérias, o que torna o diagnóstico demorado, bem como pela necessidade de estrutura física adequada do laboratório e qualificação da equipe técnica. O teste rápido molecular é indicado como ferramenta inicial de diagnóstico, em função de maior sensibilidade e especificidade em amostras respiratórias e extrapulmonares, quando em comparação à baciloscopia (SULIS et al., 2016). Entretanto, o teste rápido molecular tem um custo considerável, não sendo disponível na maioria dos laboratórios da rede privada.

O teste cutâneo, realizado pela inoculação intradérmica de um derivado proteico do *Mycobacterium tuberculosis* no antebraço do paciente, seguida de observação da reação de hipersensibilidade na região onde a substância foi injetada após cerca de 48 a 72 horas, ou ainda 96 horas, não é muito indicado (BRASIL, 2014). Podem ocorrer falso-positivos em pacientes vacinados com a BCG, principalmente se vacinados (ou revacinados) após o primeiro ano de vida, quando a BCG produz reações mais duradouras. Já um resultado falso-negativo pode acontecer com pessoas que não respondem à substância injetada no exame: idosos com mais 65 anos, crianças com menos de 3 meses de vida, paciente com desidratação acentuada e mulheres em período de gestação (BRASIL, 2011).

2.3 Baciloscopia

A baciloscopia consiste no exame direto da amostra biológica após coloração específica, para a pesquisa do bacilo por microscopia óptica. É um teste de rápida execução e baixo custo, mas depende da experiência do observador.

O *M. tuberculosis* tem forma de bastonete e por isso é classificado morfológicamente como bacilo, tendo um formato reto ou ligeiramente curvo (FIG. 2). Pode medir de 1µm de comprimento por 0,2µm de largura, podendo chegar a 10µm de comprimento por 0,6µm de largura (LOGAN, 1994).

Figura 2 – Exemplo bacilo tuberculose em forma de bastonetes



Fonte: elaborado pelo autor.

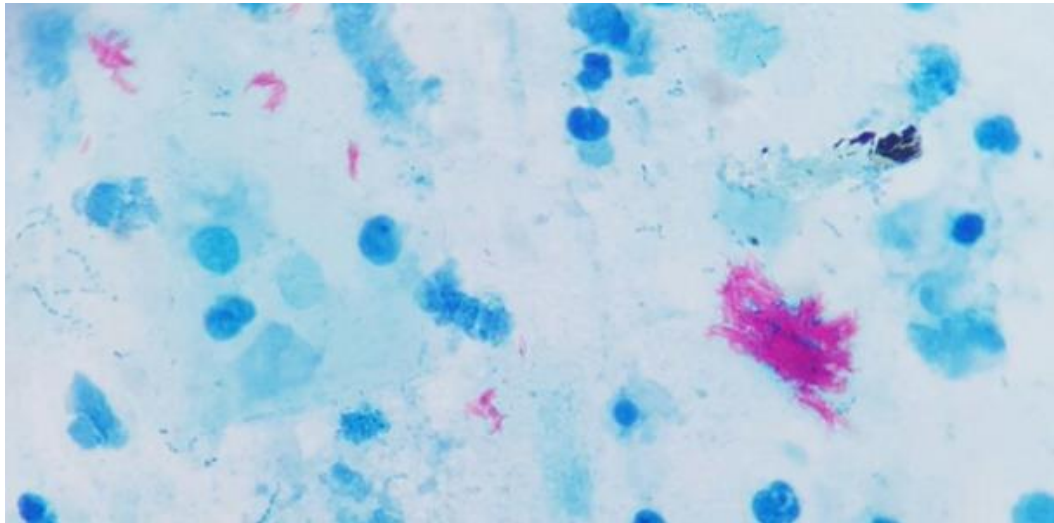
De maneira a detectar a bactéria, utiliza-se frequentemente a técnica de coloração de Ziehl-Neelsen, que foi desenvolvida em 1882, por Franz Ziehl, e posteriormente alterada por Friedrich Neelsen. Este método de coloração permite detectar os microrganismos que possuem paredes celulares constituídas de um material ceroso, as quais são capazes de resistir à descoloração pela mistura álcool-ácido, depois de coradas a quente pela fucsina básica. A propriedade de resistência ao álcool-ácido, evidenciada pela coloração de Ziehl-Neelsen, está relacionada com a composição da parede celular das micobactérias, que é constituída por ácidos graxos de cadeias longas, conhecidos como ácidos micólicos. Esta propriedade é a característica mais importante para a análise por microscopia, pois permite que o bacilo assuma coloração rosada, facilitando a visualização do mesmo na amostra. Por este motivo, os bacilos são conhecidos como Bacilos Álcool-Ácido Resistente (LOGAN, 1994).

A fucsina fenicada atuando, irá corar todas as células bacterianas e outras estruturas presentes no esfregaço de vermelho. A mistura álcool-ácido é aplicada para descorar todas as bactérias, exceto as resistentes a este processo de descoloração, que permanecem coradas de vermelho pela fucsina. As bactérias que foram descoradas pela mistura álcool-ácido assumem a cor azul do corante de contraste (azul de metileno). Assim, as bactérias serão visualizadas através do microscópio da seguinte forma:

- a) Bacilos Álcool-Ácido Resistentes (BAAR): coradas de vermelho; e
- b) Bactérias Não Álcool-Ácido Resistentes: coradas de azul.

Nas imagens de baciloscopia é comum encontrar aglomerados de bacilos da tuberculose pulmonar, conforme mostra a figura a seguir (FIG. 3).

Figura 3 – Lâmina corada pela técnica de coloração Ziehl-Neelsen e bacilos da tuberculose pulmonar aglomerados



Fonte: elaborado pelo autor.

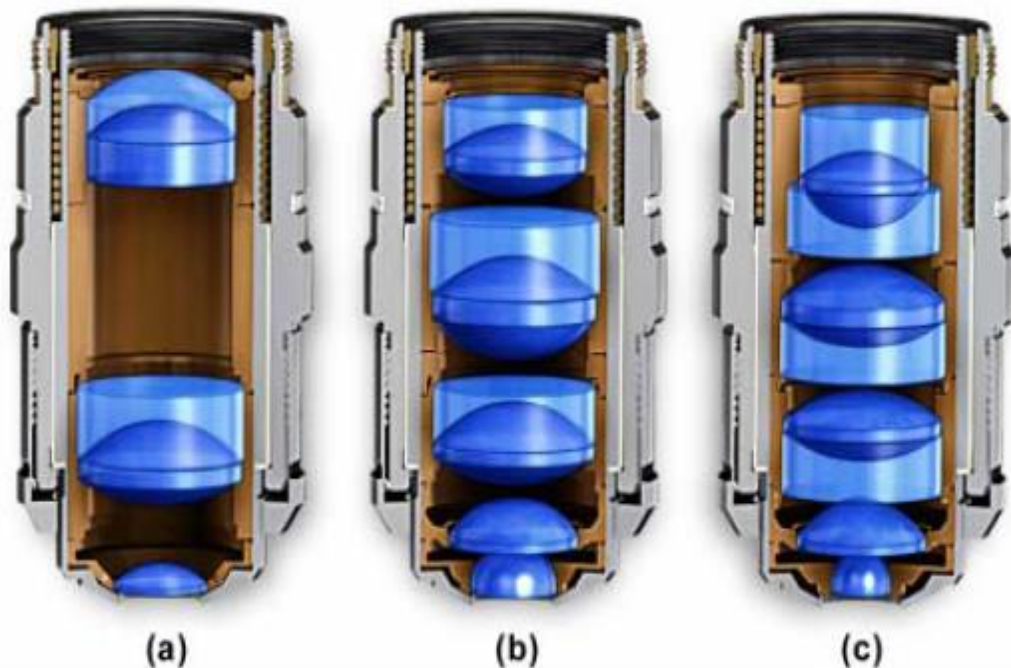
2.4 Técnicas de microscopia

A microscopia é um conjunto de técnicas que possibilitam uma melhor compreensão, observação e manipulação de estruturas que se encontram abaixo do limite de resolução do olho humano, que são objetos com tamanhos em torno de 0,2 mm. Embora a data do primeiro uso de uma lente de aumento seja um pouco misteriosa, sabe-se que as lentes de aumento iniciais eram conhecidas como lentes de mão, também chamadas de lupas (MASTERS, 2008). A utilização de microscópios

permitiu, ao longo do tempo, um aumento gradativo do poder de ampliação associado a uma melhoria na resolução, que vem evoluindo com o tempo e os avanços tecnológicos.

Os microscopistas iniciais foram prejudicados pela má qualidade das lentes. As aberrações, como são chamadas estas distorções, foram parcialmente corrigidas em meados do século XIX, com a introdução das lentes objetivas acromáticas, que reduziu a aberração cromática (distorções de cor), mas ainda não corrigiu totalmente as aberrações. Em 1886, o trabalho de Ernst Abbe com Carl Zeiss levou à produção das lentes objetivas apocromáticas baseadas, pela primeira vez, em princípios óticos (FIG. 4). Estas objetivas proporcionaram imagens com aberração esférica e livre de distorções de cor (aberração cromática) (PIERINI; MAXFIELD, 2003).

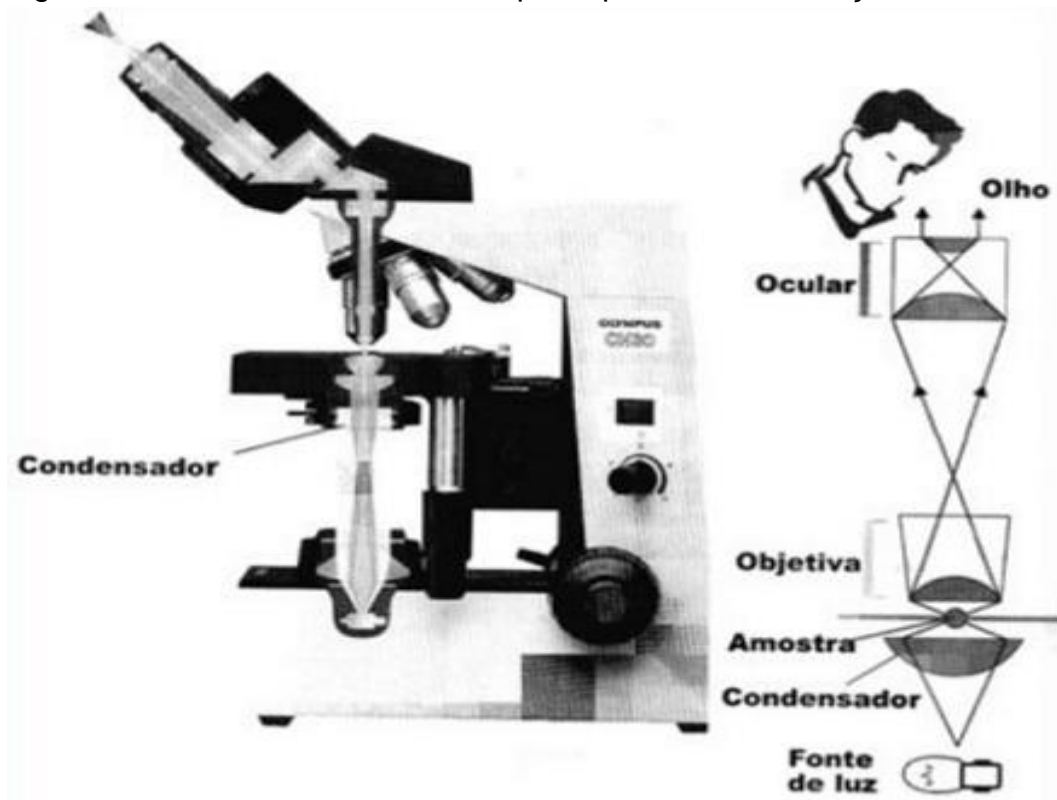
Figura 4 – Níveis de correção óptica para aberração em lentes objetivas: a) objetivas acromáticas; b) objetivas semiacromáticas; c) objetivas apocromáticas



Fonte: Davidson e Abramowitz (2002).

Vários anos depois, em 1893, o professor August Köhler introduziu um método de iluminação que ele desenvolveu para otimizar a fotomicrografia, permitindo que os microscopistas aproveitassem ao máximo o poder de resolução das lentes objetivas (DAVIDSON; ABRAMOWITZ, 2002), o qual vem sendo utilizado até hoje na chamada microscopia ótica convencional.

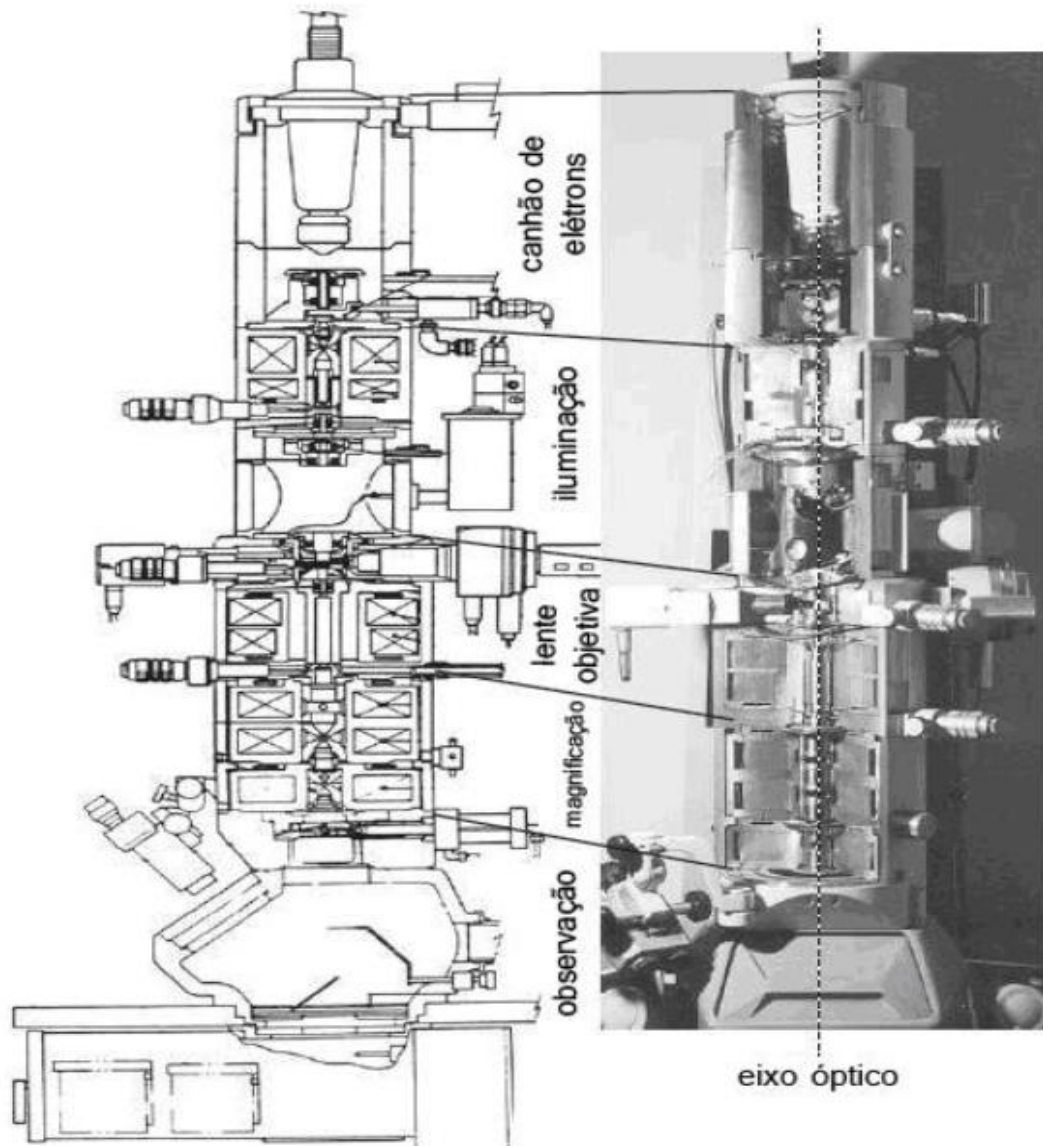
Figura 5 – Funcionamento microscópico óptico com iluminação Köhler



Fonte: Amaral e Branco (2017).

Em 1931, o físico alemão Ernst Ruska e seus colaboradores apresentam o primeiro Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET). A projeção deste aparelho e a sua importância foi tão grande que 55 anos após, em 1986, Ruska recebeu o Prêmio Nobel de Física pelo MET com ampliação (até 300 mil vezes). Em 1939 a empresa Siemens produz o primeiro microscópio de transmissão comercial (DAVIDSON; ABRAMOWITZ, 2002).

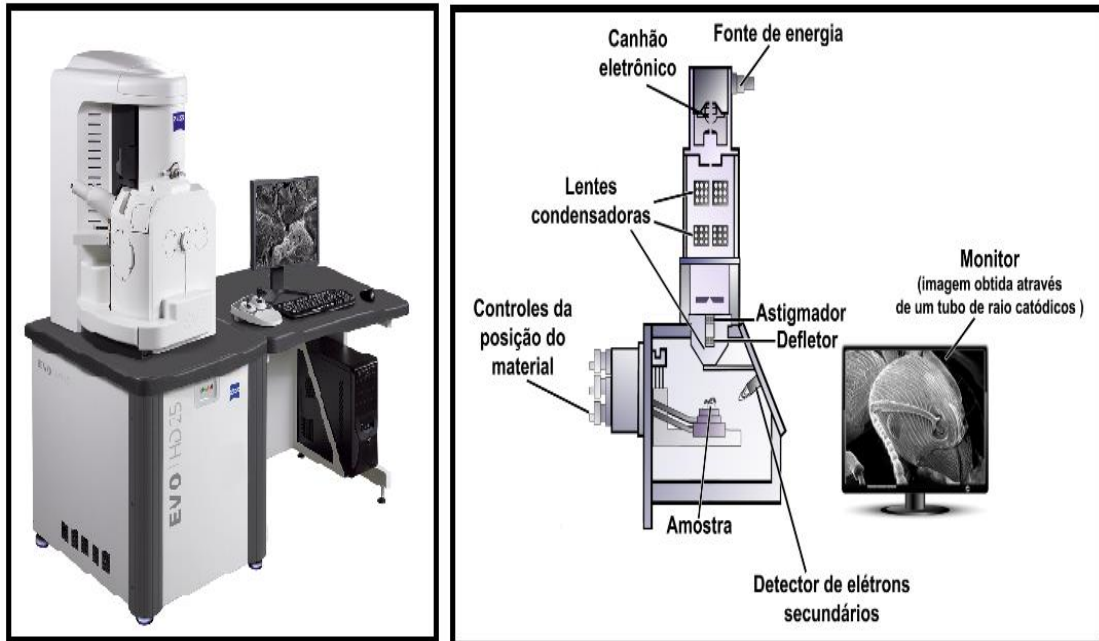
Figura 6 – Esquema do interior de um MET



Fonte: Ramos (2013).

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), apesar de possuir um princípio de funcionamento semelhante, inclusive com estruturas e mecanismos iguais, como por exemplo, o uso de lentes magnéticas, a formação da imagem nessa microscopia ocorre de maneira diferente. Nessa técnica, as imagens são formadas por sinais coletados após a amostra ser “varrida” pelo feixe de elétrons. No preparo da amostra para Microscopia Eletrônica de Varredura, o material precisa ser fixado com uma solução contendo aldeídos e desidratado.

Figura 7 – Esquema do interior de um MEV



Fonte: adaptado pelo autor, com base em Amaral e Branco (2017).

A interação de materiais biológicos com o feixe de elétrons é fraca, assim, para a amostra ser analisada ela precisa passar por um processo denominado de metalização, para isso são adicionados materiais condutores em sua superfície, normalmente átomos de ouro, conforme figura a seguir (FIG. 8).

Figura 8 – Formiga pronta para ser visualizada e analisada através da MEV



Fonte: Amaral e Branco (2017).

Por fim, o desenvolvimento da microscopia eletrônica tem permitido grandes avanços em pesquisas microscópicas, contudo, apesar de toda a versatilidade dos microscópios eletrônicos e, principalmente, da qualidade extraordinária das imagens que podem ser capturadas por meio deles, dois fatores não favorecem sua utilização no dia-a-dia. A preparação das amostras para a microscopia eletrônica requer muito cuidado e precisam passar por várias etapas até estarem prontas para serem analisadas. Tem custo muito elevado, comparando com microscópios óticos convencionais, e por isso são encontrados quase que em sua totalidade em grandes centros de pesquisa, inviabilizando a utilização da microscopia eletrônica de forma rotineira em laboratórios e/ou em outros centros de referência na área de saúde.

Dentre as técnicas de microscopia acima demonstradas, a mais utilizada em laboratórios e outros centros de referência na área de saúde, pelo baixo custo do microscópio e de seus componentes, em relação aos custos da microscopia eletrônica, e que é suficiente para observação, detecção e contagem do bacilo da tuberculose, é a microscopia convencional.

2.5 Análise e Processamento Digital de Imagens

O processamento de imagens digitais é realizado de modo que uma imagem corresponda aos julgamentos visuais humanos. Então, para que o objetivo do processamento de imagem possa ser devidamente definido, necessário se faz entender como funciona a visão humana.

A luz refletida do objeto entra na camada externa que cobre a frente do olho, que é chamado de córnea. Paralelamente, a luz passa através de um fluido aquoso. Então a luz atinge a íris, que pode contrair ou dilatar para limitar ou aumentar a quantidade de luz que atinge o olho. Atravessando a íris, a luz agora chega à pupila, um ponto preto no centro dos olhos, e depois atinge o cristalino, que pode mudar sua forma para obter foco na luz refletida de um objeto mais próximo ou de um objeto mais longe.

No entanto, ao contrário dos seres humanos, que se limitam à banda visual do espectro eletromagnético, as máquinas de captura de imagem abrangem quase todo o espectro eletromagnético, variando de gama para ondas de rádio, e podem operar em imagens geradas por fontes que os olhos humanos não estão acostumados a se associar. Estes incluem ultrassom, microscopia eletrônica e imagens geradas por

computador. Assim, o processamento de imagens abrange um amplo e variado campo de aplicações (GONZALEZ; WOODS, 2007).

Uma imagem pode ser definida matematicamente como uma função $f(x,y)$ que foi discretizada tanto em coordenadas espaciais, quanto em brilho e pode ser representada por uma matriz com duas dimensões. Cada elemento desta matriz é chamado de *pixel* ou *pel*, derivado do termo "*picture element*" e, normalmente, o tamanho dessa matriz é de algumas centenas de *pixels* por outras centenas de *pixels*, e nestes *pixels* existem várias dezenas de possíveis níveis de cores, para imagens coloridas, ou dezenas de níveis de cinza, para imagens preto e branco. A altura e a largura representam a localização do *pixel* e um terceiro valor representa a cor ou intensidade do *pixel*. Assim, o arranjo de uma imagem digital parece assim:

$$f(x,y) = \begin{bmatrix} f(1,1) & f(1,2) & \dots & f(1,N) \\ f(2,1) & f(2,2) & \dots & f(2,N) \\ \vdots & \vdots & \dots & \vdots \\ f(N,1) & f(N,2) & \dots & f(N,N) \end{bmatrix}$$

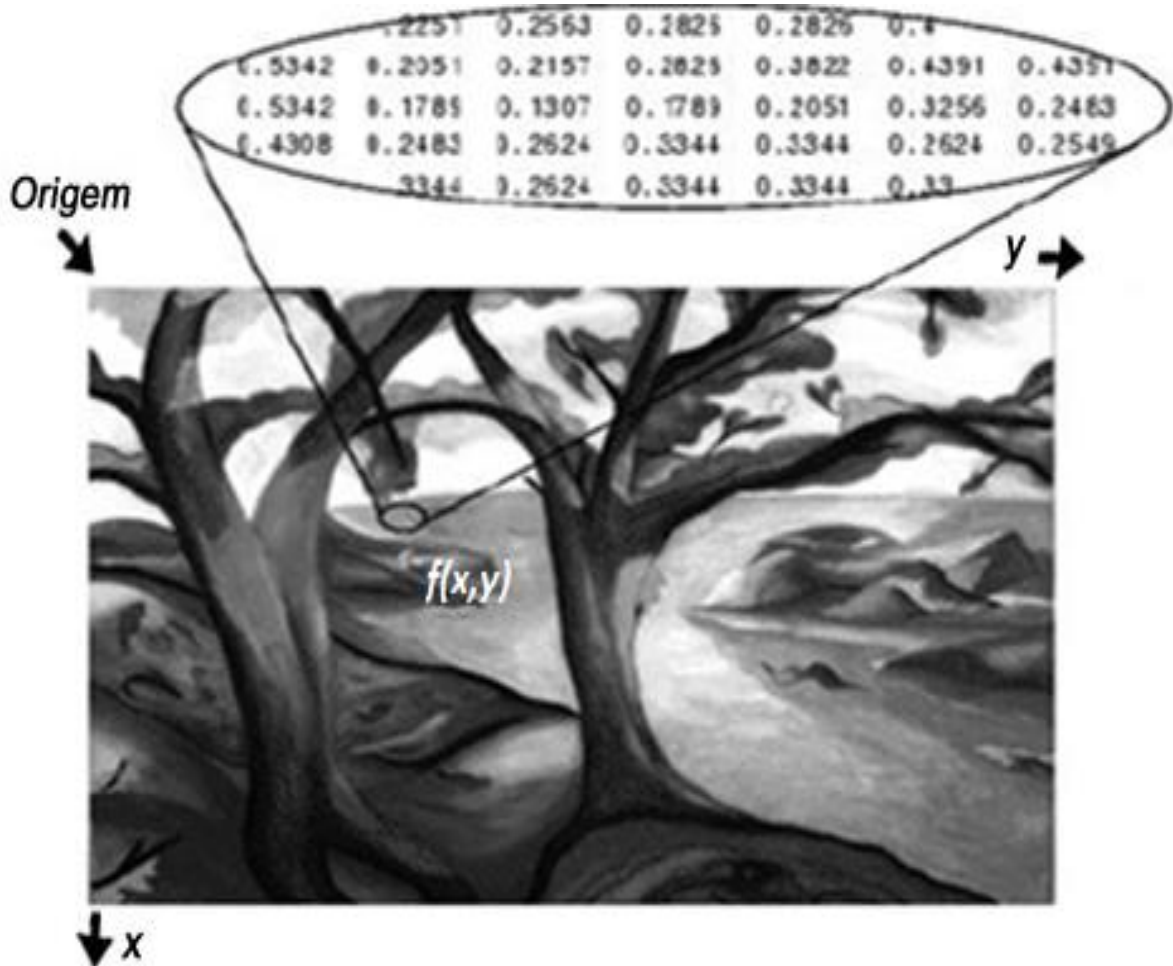
Com $0 \leq f(x,y) \leq G - 1$, onde geralmente N e G são expressos como potências inteiras positivas de 2 ($N = 2^n$, $G = 2^m$) (PETROU, 2010).

Cada *pixel* tem um único valor de cor e de intensidade e este arranjo é chamado de *bit map*. Uma vez que se tem uma imagem codificada como matriz, pode-se aplicar diversos algoritmos para processar, analisar e entender a imagem, em escala de cinza, composta por preto e branco, conforme demonstrado na figura seguinte (FIG. 9), que ilustra a organização matricial correspondentes aos níveis de cinza de uma imagem digital, expressos entre 0 (zero), para preto, até 1 (um), para branco. Ou em imagem colorida, onde a cor de cada *pixel* é uma combinação das cores básicas, que são compostas pelas cores Vermelho, Verde e Azul.

De forma geral, as cores são determinadas pela quantidade de *bits* utilizados. Um *bit* permite representação de duas cores, 0 (zero) para preto e 1 (um) para branco, tendo como definição matemática 2^1 e uma imagem final em preto e branco. Assim sendo, com n *bits* pode-se representar 2^n tons de cinza ou em cores, nas combinações para alcançar a cor geral. O padrão mais utilizado é de 8 *bits* por canal de cor, ou seja

24 bits de cores, que correspondem a aproximadamente 60.700.000 cores, que também é chamada de *Truecolor* (GOMIDE, 2014).

Figura 9 – Estrutura matricial da imagem



Fonte: adaptado de Eddins (2002).

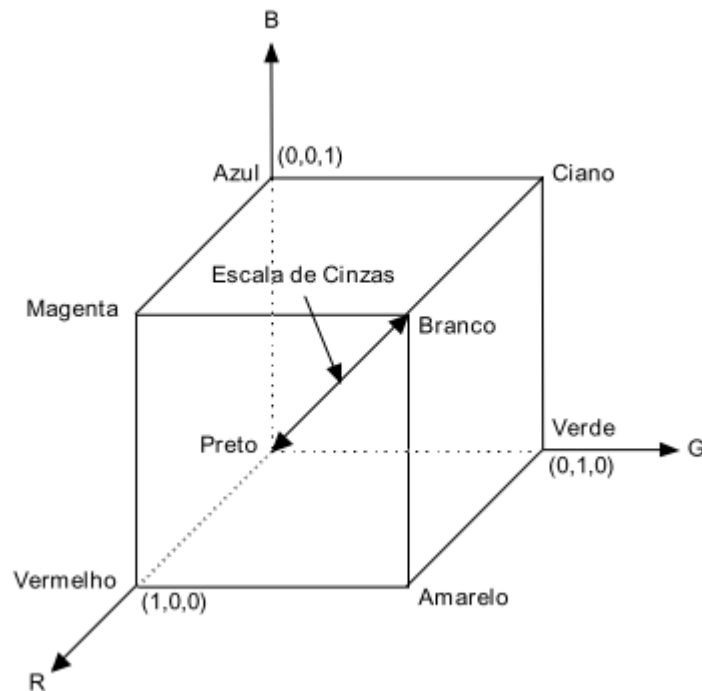
A percepção cromática, ou percepção de uma imagem colorida, baseia-se na teoria de Yoong em 1801, que estabelece que os cones, células fotossensíveis que compõem a retina juntamente com os bastonetes, dividem-se em três classes, com diferentes máximos de sensibilidade em torno do vermelho (R - Red), verde (G - Green) e azul (B - Blue). Dessa forma, todas as percepções de cores pelo olho humano, são derivadas das combinações das intensidades recebidas destes três cones (MARQUES FILHO; VIEIRA NETO, 1999).

RGB é a abreviatura do sistema de cores aditivas, em que o Vermelho (Red), o Verde (Green) e o Azul (Blue) são denominadas cores primárias aditivas, e através da combinação de uma ou mais dessas cores é possível obter qualquer outra cor. O

propósito principal do sistema RGB é a reprodução de cores em dispositivos eletrônicos como monitores de vídeo (MARQUES FILHO; VIEIRA NETO, 1999), monitores de TV, retroprojetores, scanners, câmeras digitais e outros.

O modelo de cor RGB também é baseado em um sistema de coordenadas cartesianas; contudo, recebendo em cada coordenada um valor para o canal R (Red), um valor para o canal G (Green) e um valor para o canal B (Blue), e que pode ser visto como um cubo, onde três de seus vértices são as cores primárias, outros três as cores secundárias; o vértice junto à origem é o preto e o mais afastado da origem corresponde à cor branca, conforme ilustrado na figura a seguir (FIG. 10).

Figura 10 – Modelo RGB



Fonte: Marques Filho e Vieira Neto (1999).

Para processar uma imagem, deve-se levar em conta alguns fatores, como a aquisição e o armazenamento. A aquisição determina a qualidade dos dados da imagem, pois uma aquisição fora dos parâmetros desejados poderá afetar os dados referentes àquela imagem e, conseqüentemente, sua análise. O processamento se dará a partir de uma imagem já armazenada na base de conhecimento. Então, é necessário entender os vários formatos para armazenamento de imagens, pois não existe um só padrão para o cabeçalho ou formato de armazenamento de imagens,

também denominados de *Codecs*, que é o acrônimo de Codificação e Decodificação. Alguns dos formatos mais comuns de *Codecs* são:

- a) *Joint Photographic Experts Group* (JPEG): é o método de compressão mais adequado para imagens com muitas cores, 16.8 milhões ou 24 bits;
- b) *Tag Image File Format* (TIFF): suporta cores até 48 bits, ou uma palheta de 65.536 cores, além disso, é suportado em diversas plataformas de Sistemas Operacionais;
- c) *Graphics Interchange Format* (GIF): suporta cores de até 24 bits numa palheta de 256 cores em imagens de 65.536 x 65.536 *pixels*. Permite armazenamento de múltiplas imagens no mesmo arquivo, possibilitando animações; e
- d) *Bitmap* (BMP): suporta cores com até 24 bits. Pode, ou não, ter compressão e é pouco suportado em outros sistemas que não sejam PC e Macintosh. Os arquivos de *bitmap* do Windows, que são armazenados em um formato de “Bitmap Independente do Dispositivo” (DIB²).

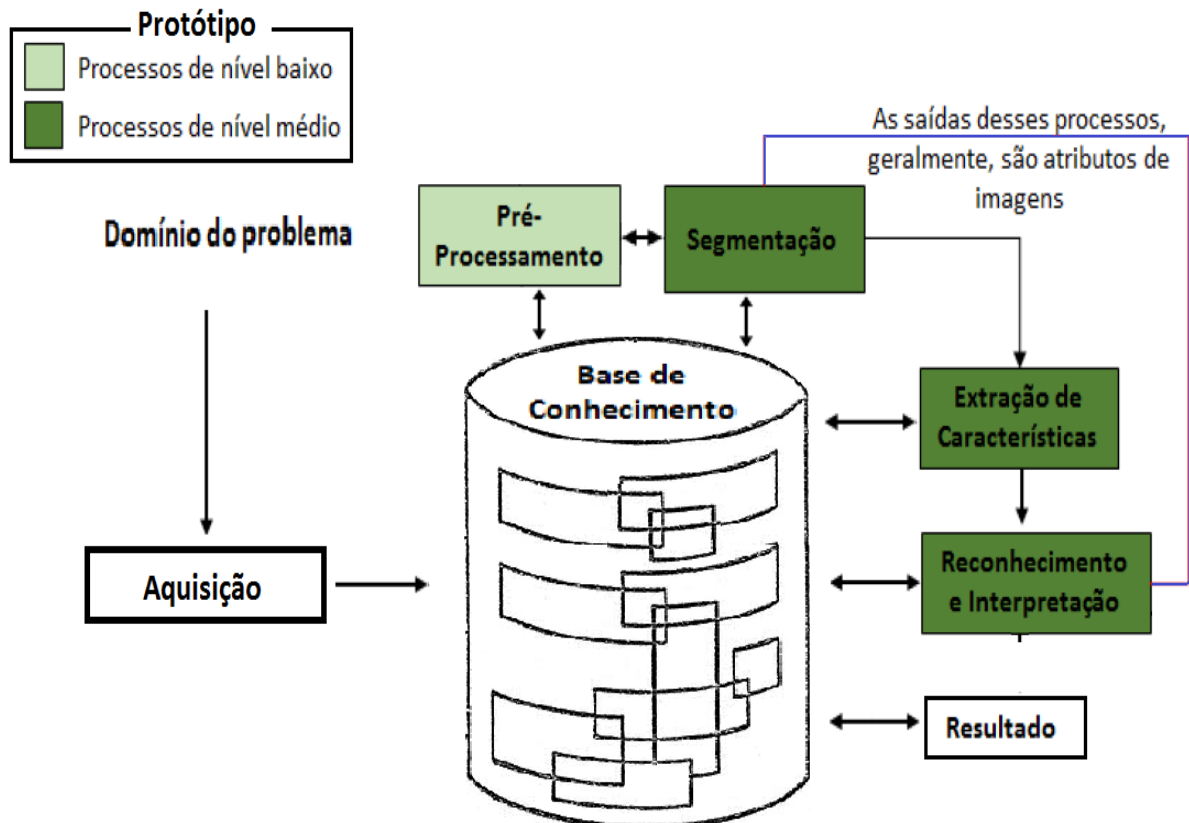
O processamento de qualquer tipo de imagem que resulte em outra imagem, ou um conjunto de medidas associado a essa imagem, é conhecido como Processamento Digital de Imagem, mostrado na figura seguinte (FIG. 10). É usado pela aplicação de procedimentos de processamento de sinal normal em sinais bidimensionais (2D).

O processamento de imagens é uma área de pesquisa de informática que começou na década de 1950, com a criação do *Central Processing Unit* (CPU). Desde a década de 1960 vem em constante crescimento. Contudo, nas últimas duas décadas teve um crescimento muito significativo. Esta área de pesquisa está em crescente desenvolvimento e existe uma grande quantidade de aplicações onde o Processamento Digital de Imagem é utilizado atualmente, tais como: orientação autônoma, vigilância automática através de captura de movimento, aprimoramento de imagens médicas para melhor diagnóstico, captura de movimentos para serem utilizados em filmes e jogos, dentre outros. Hoje em dia, há muitos *softwares* e *hardwares* para uma ampla gama de propósitos e o interesse no tópico, além de ser alto, vem crescendo a cada dia.

² Abreviatura do inglês *Device Independent Bitmap*, traduzido para português como Bitmap Independente do Dispositivo.

Conforme apresentado na figura a seguir (FIG. 11), a aquisição de uma imagem é a primeira etapa do PDI, e é composta pela captura de imagem por meio de um dispositivo (câmeras de vídeo, tomógrafos médicos, scanners, satélites). A etapa do pré-processamento tem como objetivo melhorar a qualidade da imagem, aplicando técnicas que possam eliminar imperfeições ou degradações (PEDRINI; SCHWARTZ, 2008), ou seja, aprimorar a imagem para as etapas seguintes. A etapa de segmentação é uma das áreas mais complexas no PDI. Divide a imagem em estruturas significativas que serão utilizadas em outras etapas do PDI. Segundo Gonzalez e Woods (2010), é o processo que fraciona uma imagem em suas partes ou objetos constituintes. A etapa de extração de características em imagens já pré-processadas e segmentadas, como o próprio nome diz, extrai atributos relevantes do objeto de interesse. Ainda de acordo com Gonzalez e Woods (2010), são as propriedades da imagem que resultam em alguma informação quantitativa de interesse ou que possam ser utilizados para diferenciar uma classe de outra. Por último, na classificação e reconhecimento é feita a categorização de elementos com características semelhantes em classes e, conseqüentemente, é realizado reconhecimento destas classes de forma supervisionada, utilizando exemplos de treinamento ou comparação e a não supervisionada, utilizando algoritmos como Bayesiano, K-Vizinhos, Redes Neurais, dentre outros.

Figura 11 – Etapas do sistema de Processamento Digital de Imagens



Fonte: adaptado de Pedrini e Schwartz (2008) e Gonzalez e Woods (2010).

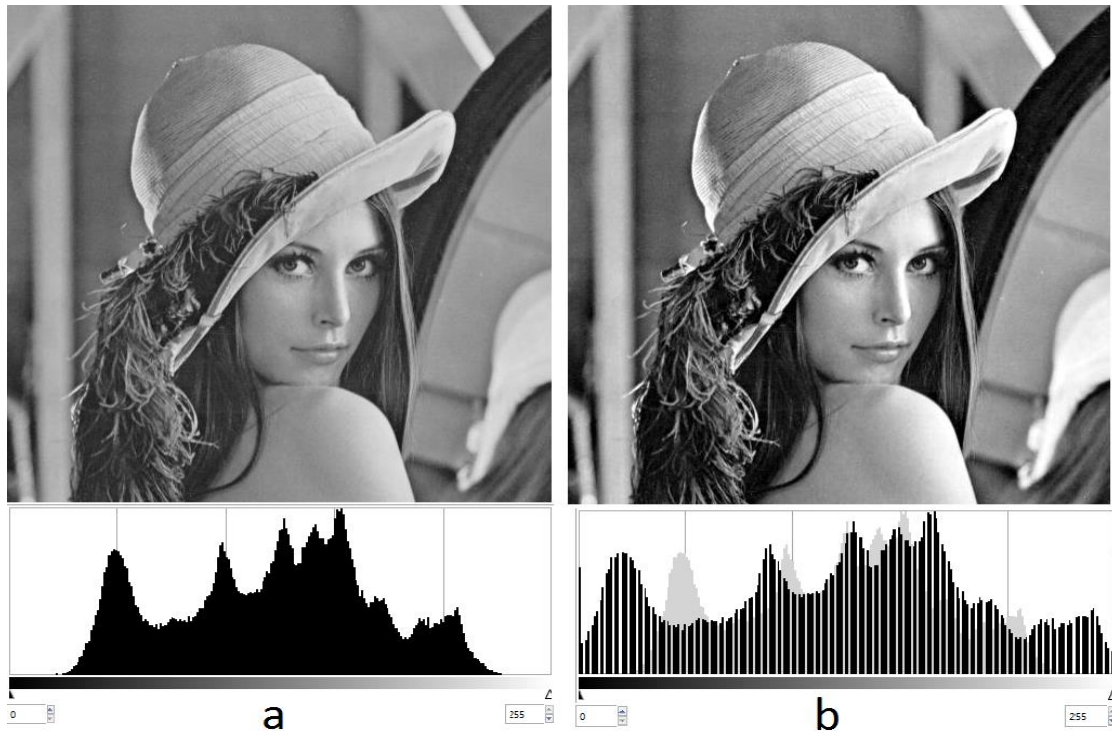
2.5.1 Técnicas de PDI

Para obtenção de um resultado satisfatório para uma determinada aplicação no PDI, em alguns casos deve-se levar em conta o aprimoramento da imagem a ser analisada. Existe uma coleção de técnicas que podem ser utilizadas para esse aprimoramento como, por exemplo, as de realce, em que serão enfatizadas as bordas de certas regiões das imagens, ou técnicas de remoção de ruídos.

Existem diversas técnicas que podem ser aplicadas na imagem digital de forma a facilitar o seu futuro processamento. Uma delas é a modificação do gráfico de frequência dos níveis de cinza, também chamado de histograma de nível de cinza. O histograma de nível de cinza lista todos os níveis de cinza que são usados na imagem no eixo horizontal e indicando o número de *pixels* com cada nível no eixo vertical. Atualmente as imagens de nível de cinza geralmente consistem em 256 níveis de cinza, ou seja, 2^8 , variando de 0 a 255, portanto, o eixo horizontal do histograma também deve variar de 0 a 255. O eixo vertical varia em escala, dependendo do

número de *pixels* na imagem e da distribuição dos valores de nível de cinza, conforme apresentado na figura a seguir (FIG. 12-a).

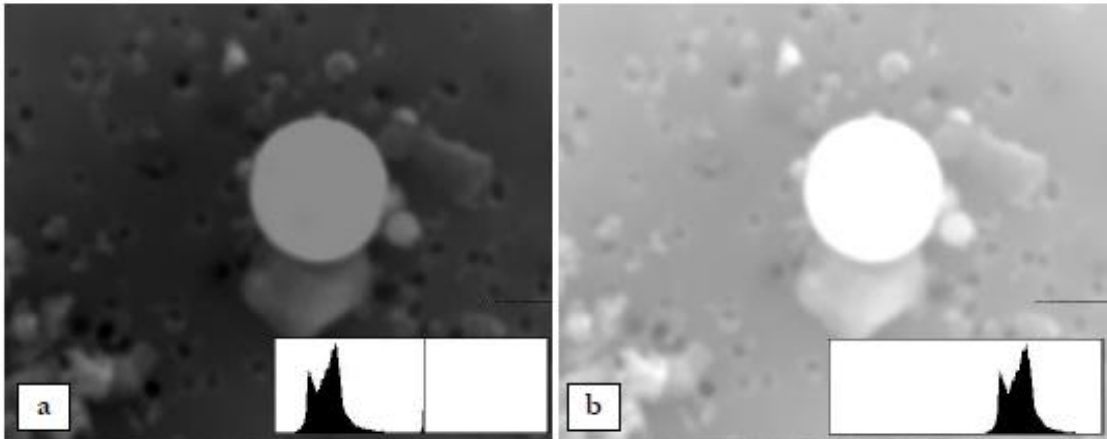
Figura 12 – Histograma de níveis de cinza da imagem de Lena: a) Imagem Original; b) Imagem com níveis de cinza corridos automaticamente utilizando ferramenta GIMP



Fonte: elaborado pelo autor.

Um conjunto de técnicas são utilizadas no histograma de nível de cinza para melhorar a aparência visual de uma imagem. Estas técnicas são baseadas no remapeamento dos níveis de cinza dentro de uma imagem, aplicando uma função de transformação. A função de transformação a ser utilizada poderá ser linear ou não linear (KIND, 1997). Nesse tipo de transformação, utilizando o remapeamento dos níveis de cinza pode-se, por exemplo, ajustar o brilho de uma imagem, conforme demonstrado na figura seguinte (FIG. 13-b).

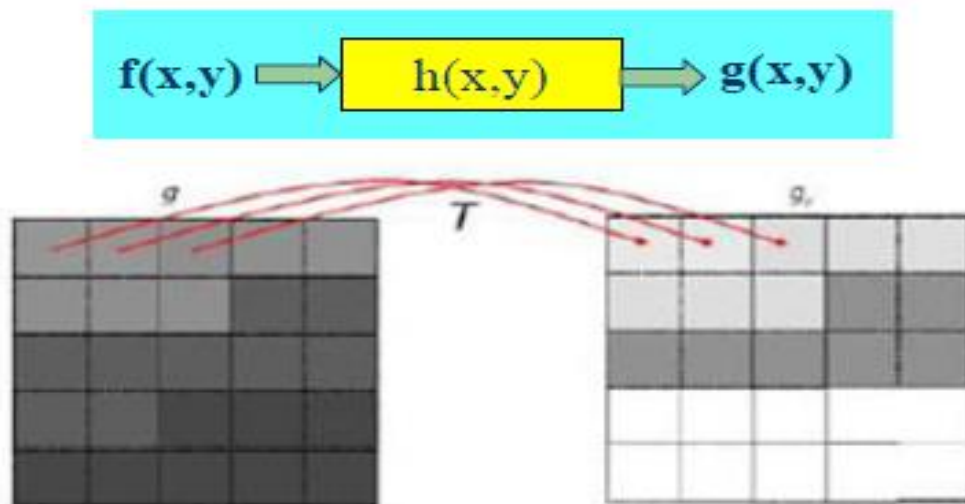
Figura 13 – Aplicação de brilho em uma imagem: a) Imagem Original; b) Imagem com correção de brilho



Fonte: Kind (1997).

Operações espaciais sobre as imagens são formas de realçar ou suavizar determinada imagem. A manipulação do contraste de uma determinada imagem, por exemplo, pode ser realizada através da aplicação de uma transformada T no nível de cinza de cada *pixel* da imagem através da operação espacial sobre esta imagem, conforme figura a seguir (FIG. 14).

Figura 14 – Operação ponto a ponto com transformada T , aplicada ao contraste da imagem



Fonte: elaborado pelo autor.

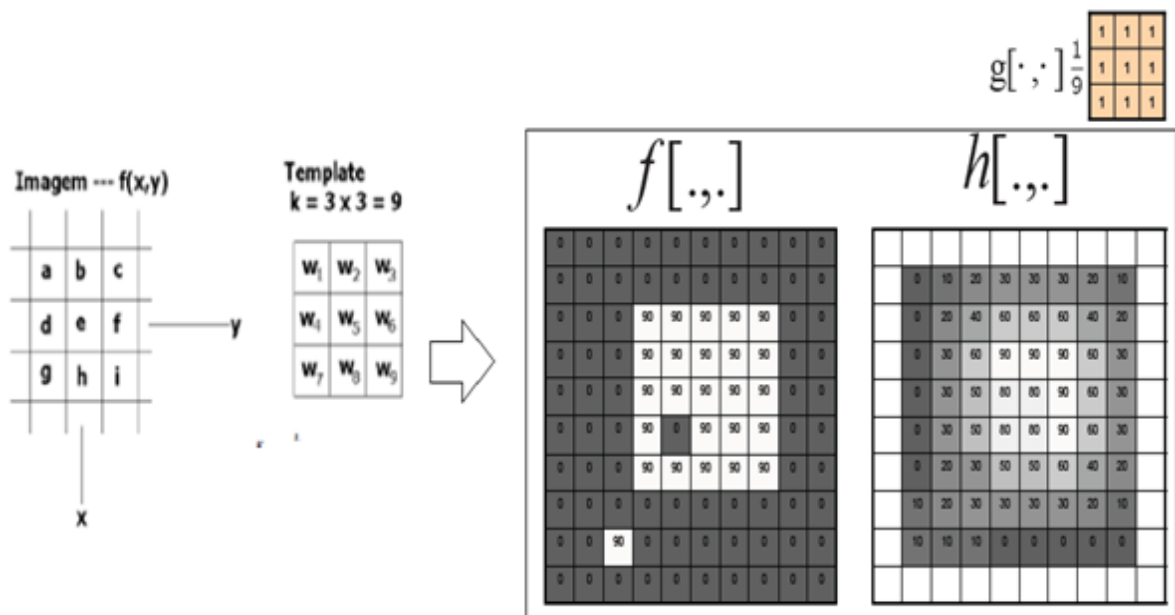
A remoção dos ruídos das imagens é realizada através de um conjunto de técnicas de aprimoramento de imagens. Ruídos são variações aleatórias nos valores

do sinal, em cada *pixel*, causadas no ato da captura ou digitalização da imagem. Estes ruídos não podem ser eliminados totalmente, contudo, podem ser reduzidos por diferentes técnicas de tratamento de sinal.

A utilização de máscaras ou filtros também são muito empregados no PDI. De forma geral, um filtro é conhecido como operador de vizinhança, onde, tipicamente cada elemento da máscara é multiplicado pelo valor do *pixel* correspondente e a soma deste resultado é armazenado como novo valor para a imagem de saída.

O filtro espacial, como o filtro passa baixa e o filtro passa faixa, é um bom exemplo de filtro que tem como técnica operações com vizinhos. É, frequentemente, aplicado para a suavização de imagens, atenuar ou eliminar as altas frequências ou uma frequência específica, minimizando os ruídos da imagem. Contudo, tem como desvantagem a diminuição da resolução, nitidez e definição da imagem. É implementado através de máscara que realizada a média da vizinhança.

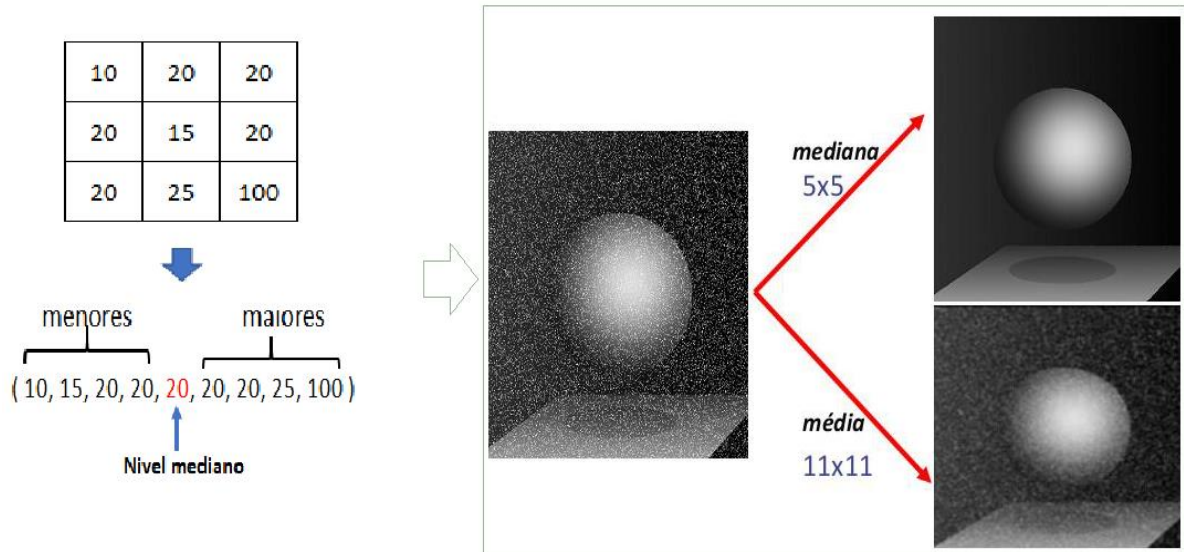
Figura 15 – Operação com vizinhança utilizando mascara 3x3



Fonte: elaborado pelo autor.

O filtro da Mediana, também muito utilizado para remoção de ruídos, tem como característica a ordenação de todos os vizinhos em ordem crescente, para assim encontrar o valor da mediana, substituindo-o na imagem, conforme demonstrado na figura seguinte (FIG. 16).

Figura 16 – Operação com filtro mediana

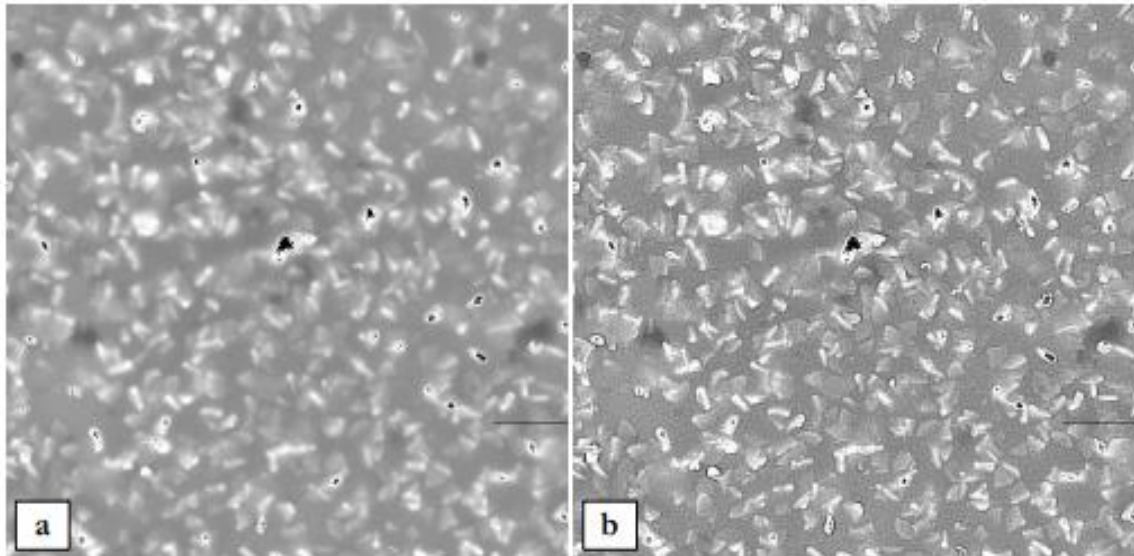


Fonte: elaborado pelo autor.

Os Filtros Passa Alta, que são frequentemente aplicados para realçar, aumentar os detalhes e nitidez da imagem, atenuam e eliminam baixa frequência. O efeito obtido é o de tornar mais nítidas as transições entre regiões diferentes da imagem. Com uma máscara especial para produzir um efeito de nitidez, deve sempre apresentar coeficientes positivos nas proximidades do centro e negativos longe, com a soma algébrica igual a zero. Com o Filtro Passa Alta a imagem resultante tem suas arestas melhoradas através de uma das matrizes a seguir e apresentado na figura a seguir (FIG. 17).

Figura 17 – Exemplo Filtro Passa Alta: a) Imagem original; b) Imagem com Filtro Passa Alta aplicado

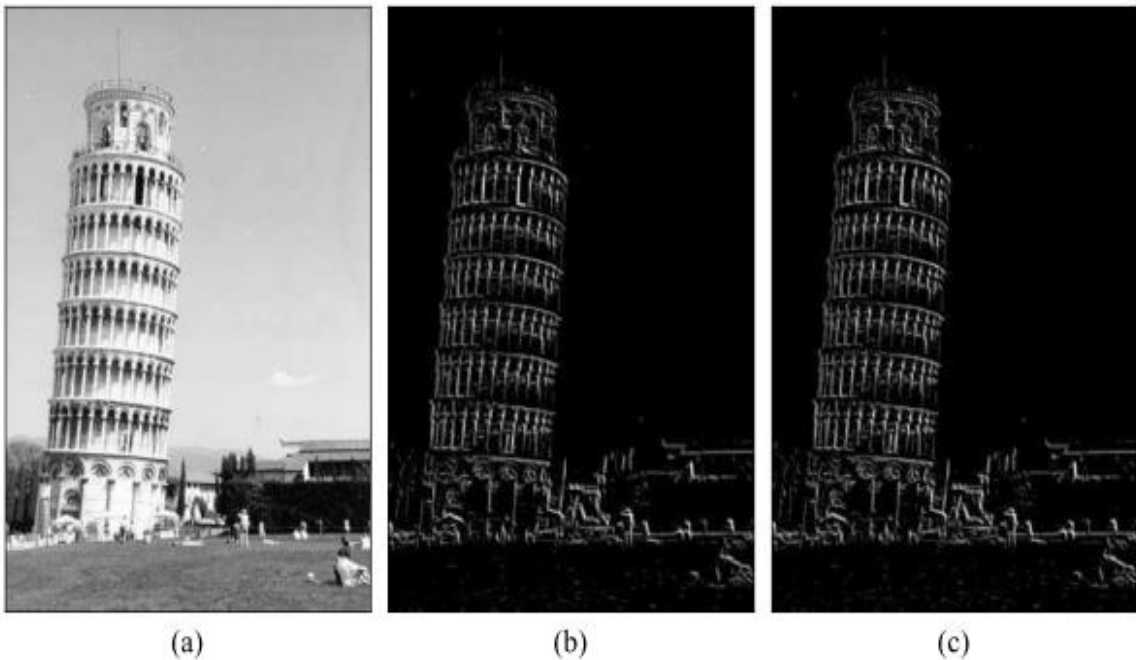
$$\begin{pmatrix} 0 & -1 & 0 \\ -1 & 5 & -1 \\ 0 & -1 & 0 \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} -1 & -1 & -1 \\ -1 & 9 & -1 \\ -1 & -1 & -1 \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} 1 & -2 & 1 \\ -2 & 5 & -2 \\ 1 & -2 & 1 \end{pmatrix}.$$



Fonte: Kind (1997).

A detecção de bordas em imagens digitais é comumente utilizada no PDI. Para a detecção de bordas utiliza-se habitualmente filtros espaciais lineares divididos em dois tipos: a) baseados no gradiente da função de luminosidade da imagem, b) baseados no laplaciano. Ambos costumam ser aproximados, conforme demonstrado na figura a seguir (FIG. 18), por máscaras de convolução ou operadores 3x3.

Figura 18 – Exemplo de realce e detecção de bordas: a) imagem original; b) realce de bordas utilizando operadores de Prewitt; c) realce de bordas utilizando operadores de Sobte



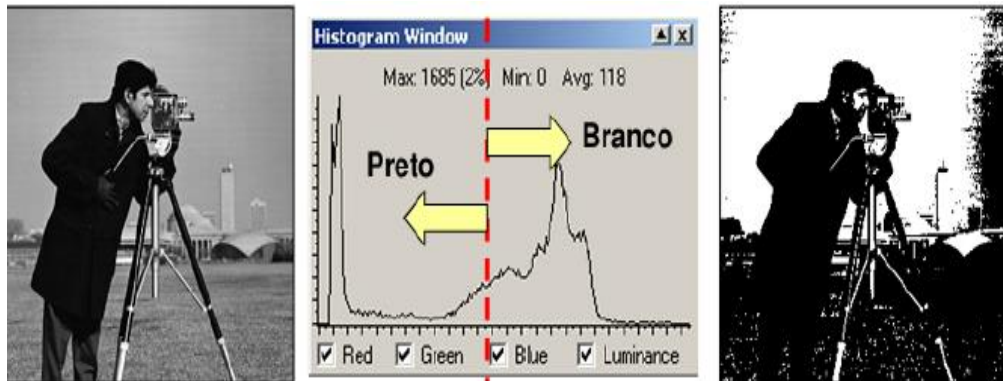
Fonte: Filho e Neto (1999).

Após a imagem ser aprimorada, pode-se selecionar uma certa região de interesse da imagem para analisá-la posteriormente. Esse processo é chamado de segmentação de imagens. A segmentação é uma das partes mais importante no processamento de imagens. O lema principal da segmentação é reduzir a informação para uma análise fácil. Uma grande variedade de métodos de segmentação foi proposta nas últimas décadas. A segmentação também é útil na análise de imagens e compressão de imagem (YOGAMANGALAM; KARTHIKEYAN, 2013).

A Limiarização (*Thresholding*) é um método bastante usado na segmentação de imagem. Consiste em separar regiões de uma imagem quando esta apresenta duas classes – que são, fundo e objeto –, inicialmente utilizando o valor de corte que defina as classes como preto e branco.

No processo de limiarização, os *pixels* conexos com valores acima do limiar geram regiões conectadas, os chamados *blobs*, ou *point of interest* (POI), bem entendida como uma região, conforme demonstrado na figura seguinte (FIG. 19).

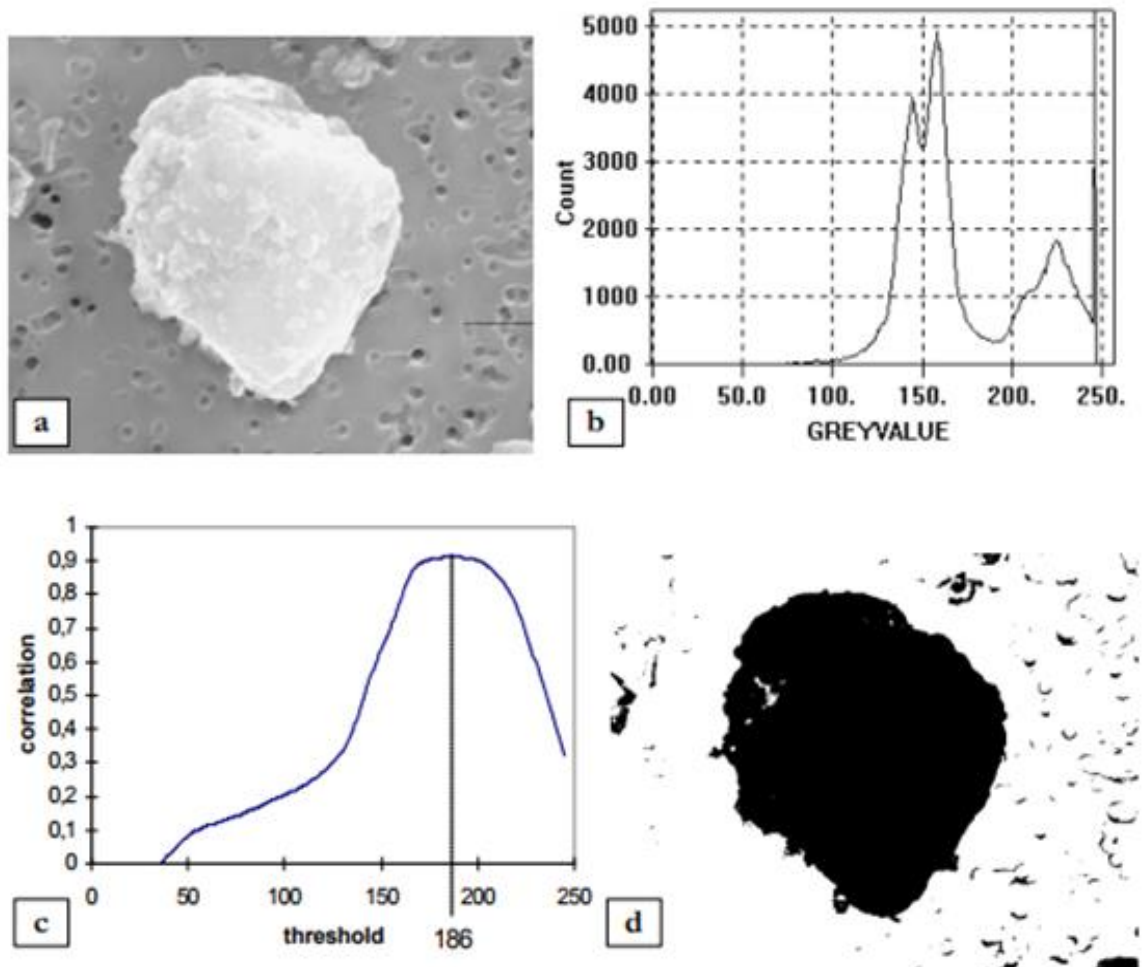
Figura 19 – Corte utilizando o valor 127 para Limiarização (*Thresholding*)



Fonte: Yogamangalam e Karthikeyan (2013).

A limiarização tem melhor aplicabilidade em imagens que apresentam uma tonalidade bem diferente do fundo da imagem. Após a limiarização, uma imagem binária é formada onde todos os *pixels* do objeto têm um nível de cinza, por exemplo, e todos os *pixels* de fundo possuem outro. A melhor limiarização é aquela que seleciona todos os *pixels* do objeto e os mapeia de forma a separar as regiões da imagem (FIG. 20).

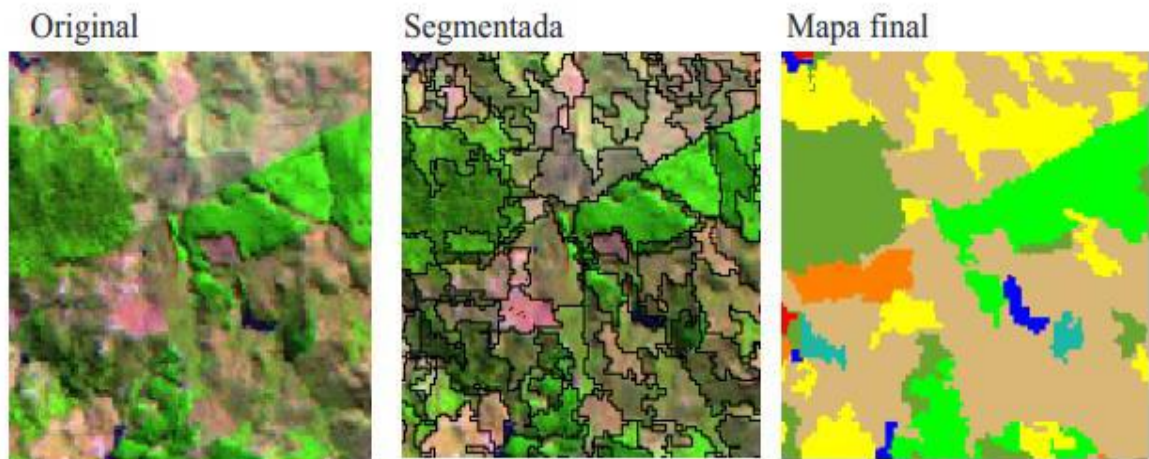
Figura 20 – Resultados após aplicação de Limiarização (*Thresholding*): a) imagem de uma partícula de poeira urbana; b) histograma de nível de cinza; c) correlação em função do nível *Thresholding*; d) a imagem resultante para um limite de corte 186



Fonte: Kind (1997).

O Crescimento de Região (*Region Growing*) tem como característica agregar *pixels* com propriedades similares e vizinhos em regiões. Seu início se dá com a adoção de *pixels* “sementes”, das quais inicia o crescimento de regiões por meio de inclusão de *pixels* vizinhos que tenham atributos similares, tais como, intensidade, cor, textura, dentre outros. O crescimento ocorre iterativamente até que todos os *pixels* processados estejam classificados e atribuídos a uma região, conforme imagem a seguir (FIG. 21).

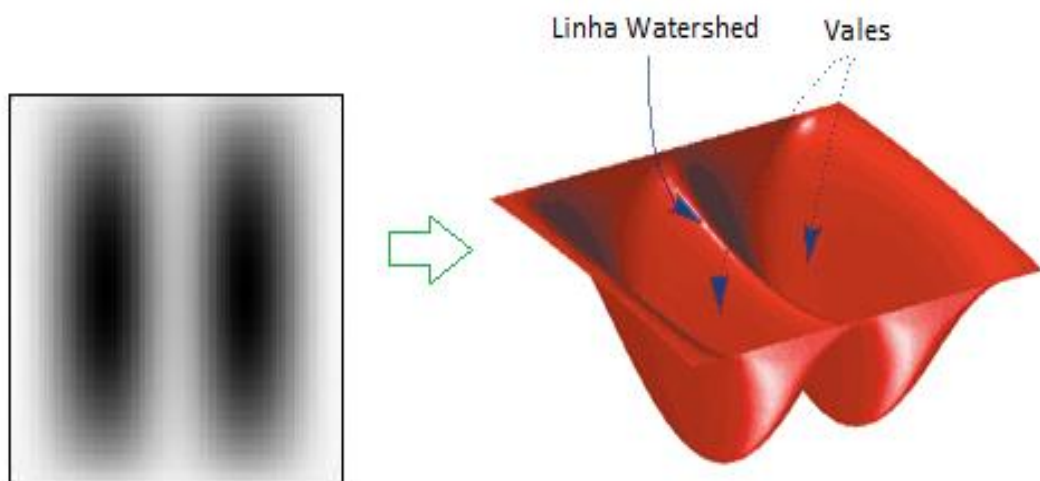
Figura 21 – Imagem segmentada do satélite LandSat



Fonte: Coutinho (1997).

O Divisor de Águas (*Watershed*) é um método de segmentação baseado em Crescimento de Região (*Region Growing*) (FIG. 21). Contudo, no método *Watershed* a imagem é interpretada como sendo uma superfície topográfica, na qual o conjunto de *pixels* pode formar vales, que representam áreas mais escuras, e montanhas, que representam áreas mais claras, ou seja, em imagens em nível de cinza (FIG. 22). Segundo Pedrini e Schwartz (2008), um processo de imersão simula a inundação da superfície da imagem a partir de perfurações localizadas nas regiões mais baixas da superfície da mesma.

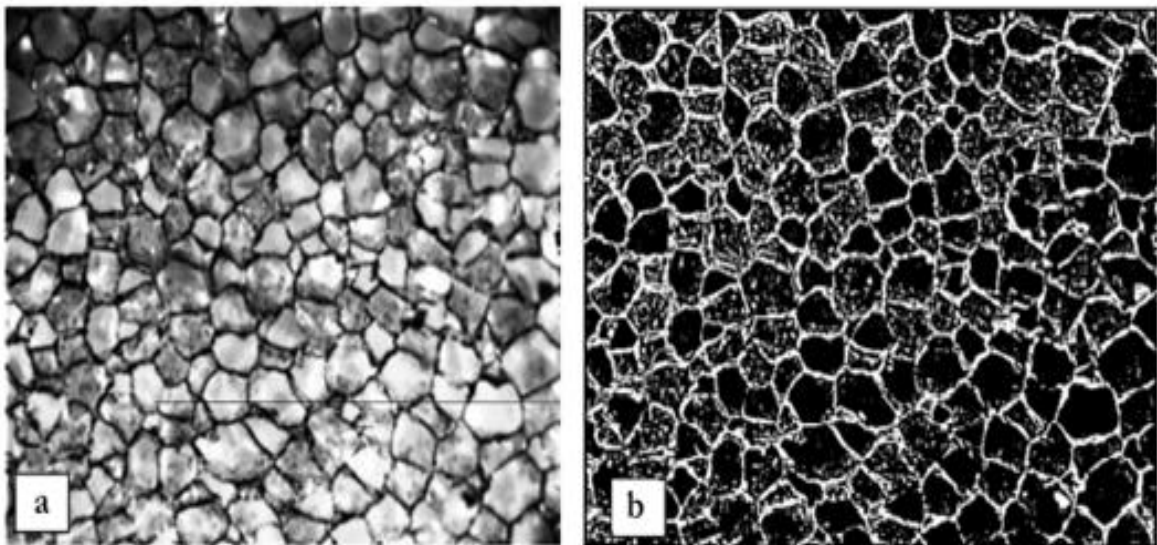
Figura 22 – Exemplo adaptador pelo autor, de vale gerado pelo *Watershed*



Fonte: Eddins (2002).

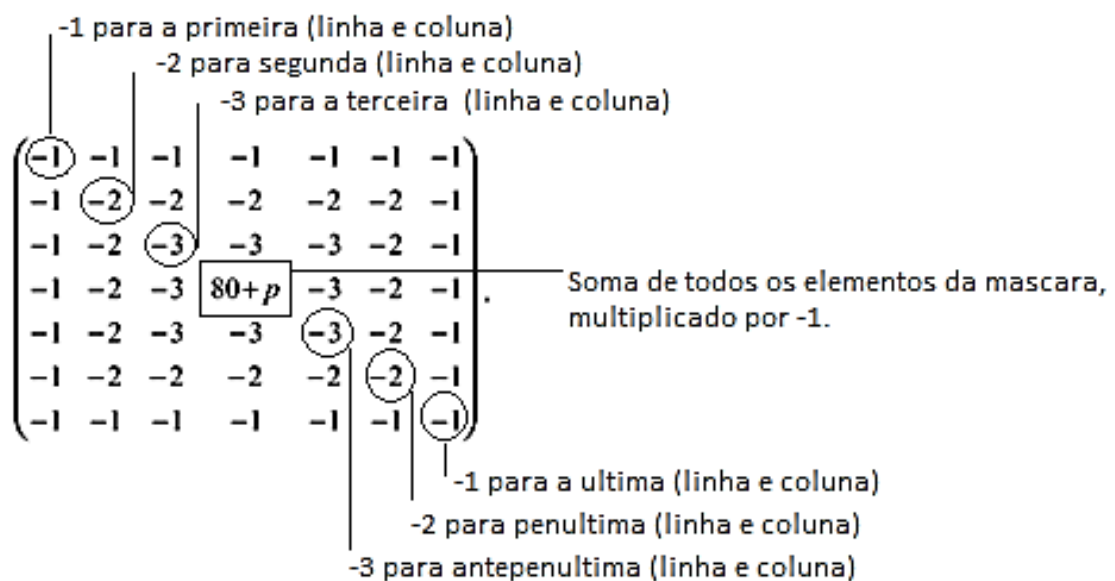
O método Binarização Local (*Local binarization*), proposto por Kind (1997), que baseia-se na aplicação da técnica de filtragem através de máscara de convolução discreta, produz uma imagem transformada que pode ser facilmente limiarizada usando 1 como valor de limiar (FIG. 23), utilizando uma máscara que pode ser criada para ser adaptada para cada imagem, conforme exemplo na figura seguinte (FIG. 24).

Figura 23 – Resultado de método de Binarização Local: a) Imagem original; b) imagem binarizada através do método Binarização Local



Fonte: Kind (1997).

Figura 24 – Exemplo de criação de máscara para Binarização local



Fonte: Kind (1997).

2.5.2 Bibliotecas

Atualmente existe uma grande variedade de bibliotecas para PDI, de código aberto em C++, Java e outras linguagens de programação, para processar e analisar imagens, tais como:

- CImg é um kit de ferramentas C++ muito popular, pequeno, abrangente e de código aberto, para processamento de imagem. O CImg significa *Cool Image*, é fácil de usar, eficiente e pretende ser uma caixa de ferramentas muito agradável para projetar algoritmos de processamento de imagem em C++. Devido à sua concepção genérica, pode abranger uma vasta gama de aplicações de processamento de imagens (WHAT, 2004).
- O Pandore também é uma biblioteca C++ para processamento de imagens. A versão atual contém operadores de processamento de imagem que operam em imagens *grayscale*, coloridas e imagens multiespectrais, 1D, 2D e 3D (PANDORE, 2017).
- OpenCV (*Open Source Computer Vision*) é uma biblioteca para ser utilizada através de funções e métodos, através de programação e inclui centenas de algoritmos de visão por computador. A biblioteca está dividida em módulos e é voltada, principalmente, para a visão computacional em tempo real, desenvolvida pelo centro de pesquisa da Intel Rússia em Nizhny Novgorod, e agora apoiada por Willow Garage e Itseez. É gratuito para uso sob a licença BSD de código aberto e possui interfaces em C, C++, Python e Java, suportando Windows, Mac Os, iOS, Android e Linux (OPENCV, 2018).

Para este trabalho, foi escolhida a biblioteca OpenCV, que contém mais de 500 funções que abrangem muitas áreas de visão, incluindo inspeção de produtos de fábrica, imagens médicas, segurança, interface do usuário, calibração da câmera, visão estéreo e robótica. O OpenCV surgiu de uma iniciativa da Intel para avançar em aplicações intensivas em CPU. É utilizado por grandes empresas (como: IBM, Microsoft, Intel, SONY, Siemens e Google) e grandes centros de pesquisa (como: Stanford, MIT, CMU, Cambridge e INRIA). Atualmente, OpenCV está ativo no desenvolvimento de diversas empresas. Teve seu início em 1999, em 2006 foi lançada

a versão final 1. Em 2009 foi lançada a versão 2, já com interface em C++. A versão 3.0 foi lançada em 2015. Atualmente a biblioteca está na versão 3.3.

O OpenCV possui uma estrutura modular, o que significa que o pacote inclui várias bibliotecas compartilhadas ou estáticas, o que facilitará a realização de testes e, principalmente, o desenvolvimento do protótipo para este projeto.

Os principais módulos são:

- a) *core*. **Core functionality**: módulo compacto que define estruturas básicas, incluindo a matriz multidimensional e as funções básicas que servem de base para serem utilizadas por todos os outros módulos;
- b) *imgproc*. **Image processing**: um módulo de processamento de imagem que inclui filtragem de imagem linear e não linear, transformações geométricas de imagem, conversão de espaço de cores, equalização da imagem por histogramas, diversos filtros para correção, diversas funções para realização de operações entre imagens, além das funções de segmentação que são muito utilizadas no processamento e análise de imagens. Este foi o módulo que mais utilizamos no desenvolvimento do protótipo para este projeto;
- c) *features2d*. **2D Features Framework**: detectores de recursos salientes, descritores e correspondentes de descritores; e
- d) *objdetect*. **Object Detection**: detecção de objetos e instâncias das classes. Utilizado para detecção de objetos em vídeos e/ou câmeras em tempo real de processamento. Altamente utilizado em aplicações de reconhecimento facial.

3 TRABALHOS RELACIONADOS AO USO DE PDI E TUBERCULOSE

Com o objetivo de identificar trabalhos relacionados ao tema de pesquisa e analisar os modelos utilizados pelos autores, foi realizada uma Revisão Sistemática de Literatura (RSL).

A RSL, segundo Atallah e Castro (1998), é um estudo que deve ser realizado de forma secundária ou paralela, que tem por objetivo reunir estudos semelhantes, publicados ou não, avaliando-os criticamente em sua metodologia e reunindo-os numa análise estatística.

Durante a revisão, foram analisados os títulos e resumos para avaliar se o trabalho pesquisado continha alguma contribuição relevante para este trabalho.

Foram realizadas pesquisas em diversas bases, utilizando as seguintes expressões e publicados no período de 2012 a 2017, conforme demonstrado no quando a seguir (QUADRO 1).

Quadro 1 – Estratégia de busca para RSL

Estratégia de Busca	
Base de dados	<i>PubMed Central® (PMC)</i> <i>National Institutes of Health (NIH)</i> <i>National Library of Medicine (NLM)</i> <i>The Royal Microscopical Society (RMS) (ISSN: 0022-2720)</i> <i>ELEKTRONIKA IR ELEKTROTECHNIKA (ktu) (ISSN: 1392-1215)</i> <i>Archives of Clinical Microbiology (ISSN: 1989-8436)</i> <i>IEEE Xplore Digital Library</i>
Expressões	<i>Automated Microscopy;</i> <i>Object classification;</i> <i>Pixel classifiers;</i> <i>Segmentation;</i> <i>Tuberculosis (TB);</i> <i>Ziehl-Neelsen (ZN).</i>

Fonte: elaborado pelo autor.

Apesar do número de bases pesquisadas, conforme mostrado no quadro anterior (QUADRO 1), foram encontrados apenas 10 trabalhos relacionados a processamento digital de imagens microscópicas relevantes para esta pesquisa. Contudo, somente 3 foram selecionados para serem analisados mais detalhadamente

e apresentados, pois as técnicas utilizadas estavam de acordo com o trabalho proposto.

Khutlang et al. (2009) utilizaram para a aquisição da imagem, a ser processada, um microscópio com uma lente objetiva de 100x Oil, com abertura numérica de 1.4 e não foi utilizado qualquer filtro para a captura da imagem. Foram capturadas para o trabalho um total de 100 imagens, número de análises sugeridas pela OMS em se tratando do diagnóstico de tuberculose. Foi acoplada uma câmera digital com resolução de 720x480 ao microscópio, com isso obtiveram imagens de 24 *bits* por *pixel*. Nestas imagens capturadas, foram utilizadas uma combinação de classificadores de *pixels* para que obtivessem melhor resultado da segmentação, pois o método de classificação individual poderia não ser tão eficiente.

O trabalho foi dividido em 2 estágios, assim chamados, onde se obteve o resultado das imagens processadas e classificadas a seguir.

A primeira fase da classificação usa classificadores de *pixels* que identifique os objetos candidatos do bacilo usando informações de cores com o filtro gaussiano. Então, o autor utiliza o filtro MoG (*Mixture of Gaussian*) (KHUTLANG et al., 2009), assim denominado pelo autor. Assim, a primeira etapa foi a utilização de classificadores de *pixel* para segmentação, treinamento de classificador, avaliação de classificadores da fase 1 (FIG. 25).

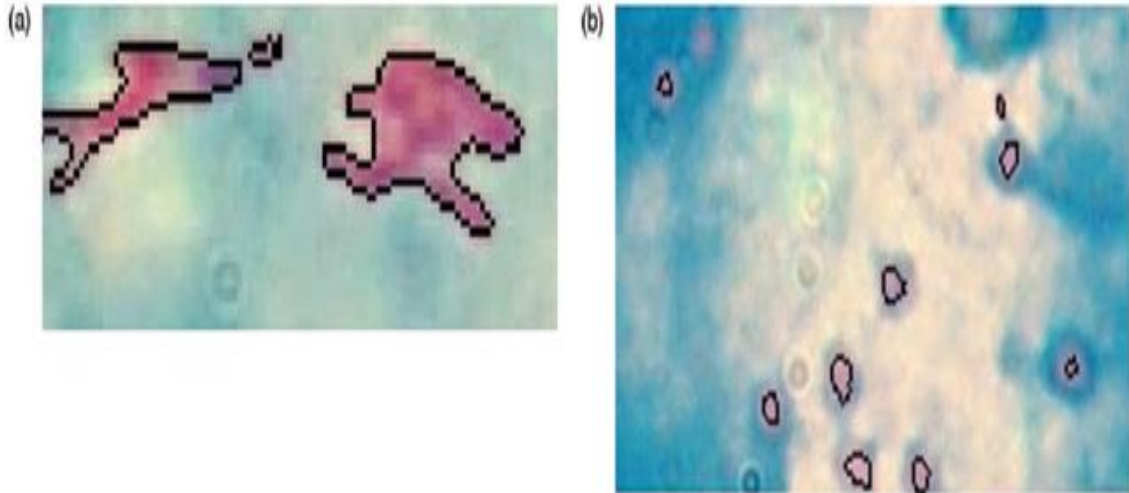
Figura 25 – Resultado do classificador (MoG)



Fonte: Khutlang et al. (2009).

Para a segunda fase, objetos adquiridos através da classificação da primeira fase, são filtrados por área (FIG. 26). O limiar foi definido em no mínimo 50 *pixels* e no máximo 400 *pixels*.

Figura 26 – Exemplo de objetos com limites detectados



Fonte: Khutlang et al. (2009).

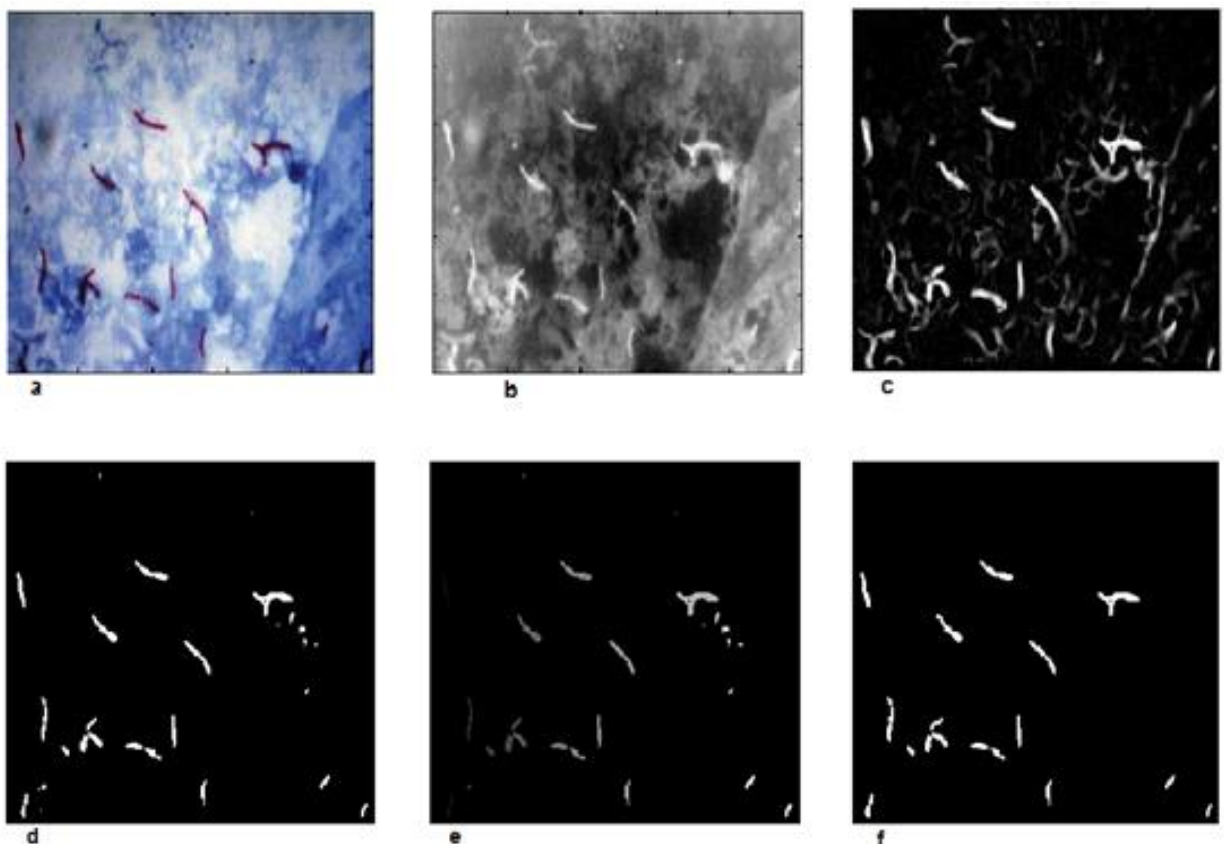
Goyal et al. (2015), utilizam inicialmente a coloração de Ziehl-Neelsen em relação à coloração e técnicas de aplicação de calor; contudo, é aplicada uma solução de 1% de carbol e aquecida novamente, após 5 minutos é enxaguado suavemente com ácido sulfúrico 25% e drenado na água por até 3 minutos. Após esse processo de confecção da lâmina esta amostra é inserida no microscópio digital para captura da imagem, esta captura é submetida por um filtro de fluorescência digital.

Uma vez adquirida a imagem, para o processamento e análise, foi utilizada a técnica de "*tubeness*", comumente utilizada para detecção vasos sanguíneos e rede neural. Especificamente o filtro "*tubeness*" atribui um valor para cada *pixel*, indicando a qual tubo este *pixel* pertence. Para cálculo das medidas do filtro "*tubeness*" foi utilizado a matriz Hessian, e com isso a forma do bacilo é detectada. Foi utilizada ainda a técnica de limiarização de *Otsu thresholding*, onde toda a imagem passa por uma convolução com um filtro gaussiano com o desvio padrão (*sigma*) antes de calcular a matriz Hessiana em cada *pixel*.

A figura a seguir (FIG. 27) ilustra o processamento automático de imagens das lâminas com esfregaço de escarro. A imagem RGB (FIG. 27-a), é convertida primeiramente em escala de cinza (b), na qual é aplicada filtragem de "*tubeness*" (FIG.

27-c). Então, é aplicado o filtro *Otsu thresholding* para separar as bactérias em forma de haste ou em forma de tubo (FIG. 27-d), e através da análise de componentes conectados é verificada cada região de primeiro plano, conectada na imagem como um objeto, separadamente (FIG. 27-e). Finalmente, as regiões não bacterianas, ou de ruído, são eliminadas e apenas as bactérias da TB permanecem (FIG. 27-f). Então, o número de regiões conectadas restantes é o número de bactérias TB detectadas.

Figura 27 – Fases do processamento automático de imagens para detecção do bacilo da TB



Fonte: Goyal et al. (2015).

Através das fases descritas, Goyal et al. (2015) obtiveram uma contagem final, em comparação com a análise manual por especialistas, conforme tabela a seguir (TAB. 1).

Tabela 1 – Comparação entre a contagem manual *versus* detecção automática do bacilo de TB (cada observação foi realizada três vezes)

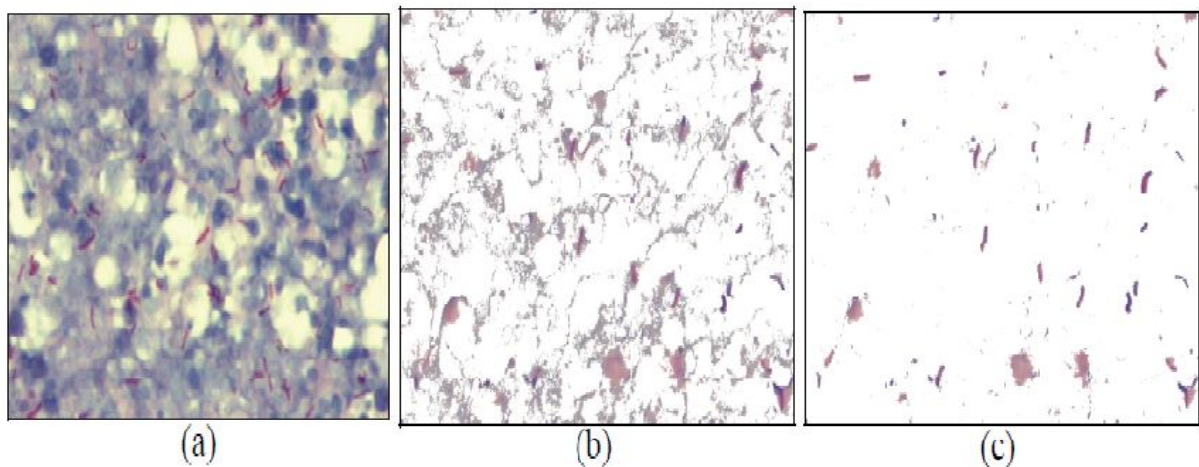
	Contagem manual Especialista 1	Contagem manual Especialista 2	Contagem automática
Observação 1	13	15	14
Observação 2	12	14	
Observação 3	14	15	
Média	13	14,6	

Fonte: Goyal et al. (2015).

Osman, Mashor e Jaafar (2012) centram-se na detecção automatizada de bacilos da tuberculose em lâminas que foram coradas com a técnica Ziehl-Neelsen, utilizando um microscópio convencional sem filtro, deixando várias tarefas de correção para processamento de imagem na etapa de segmentação. A *Extreme Learning Machine* (ELM) é o aperfeiçoamento de uma técnica utilizada na inteligência artificial, foi modificada para acelerar o treinamento do *Hybrid Multilayered Perceptron* (HMLP), utilizado em algoritmos de rede neural. O estudo proposto é dividido em quatro etapas principais: captura de imagens, segmentação de imagem, extração de recursos e classificação.

A imagem foi capturada através de microscópio convencional, com tamanho de 800x600 *pixels* e 24 *bits* de resolução RGB, salvas em formato bitmap (bmp). A técnica de segmentação é utilizada para remover a superfície da imagem que não está relacionada ao vermelho, o filtro *k-mean* com $k=2$ para segmentar a imagem.

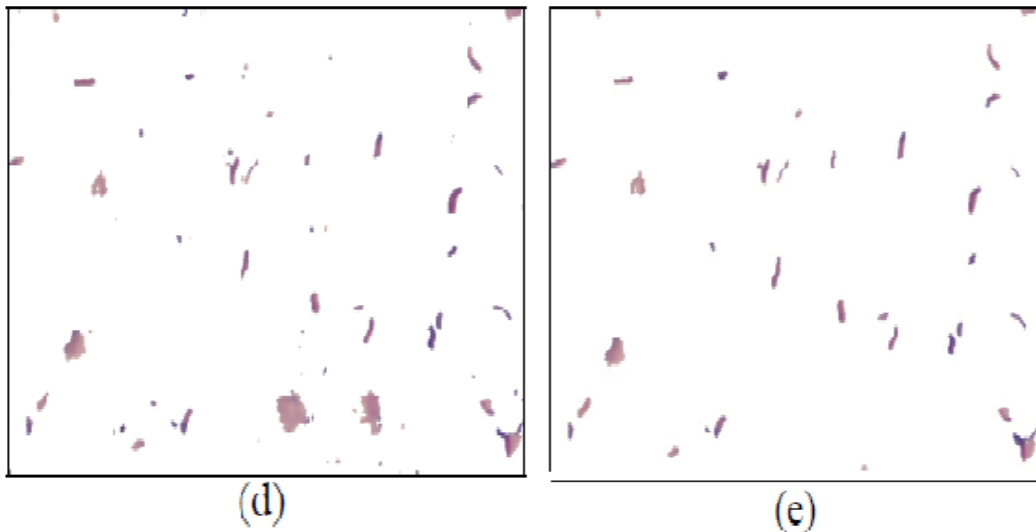
Figura 28 – Resultado da segmentação ELM: a) Imagem original; b) filtro de cor com base em CY; c) agrupamento de médias $k=2$



Fonte: Osman, Mashor e Jaafar (2012).

Ainda na etapa de segmentação, foi utilizada para remover através de um filtro de mediano 5x5, todas as regiões relacionadas ao vermelho, que não serão consideradas bacilos, seguido do filtro de crescimento de região, eliminando assim, artefatos indesejados e suavizar a imagem segmentada.

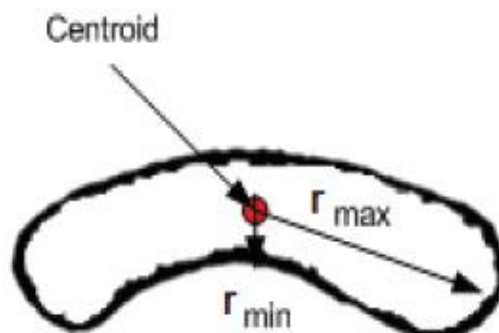
Figura 29 – Resultado da segmentação: d) filtro mediano; e) filtro “Region Growind”



Fonte: Osman, Mashor e Jaafar (2012).

Na terceira etapa, foi extraída da imagem uma série de atributos geométricos, tais como: tamanho, que se refere ao número de *pixel* de uma região; raio, refere-se à distância do centroide da região; forma, descreve o grau de circularidade; excentricidade, definindo a proporção do comprimento da corda mais longa até a corda mais longa perpendicular; dispersão, refere-se à razão entre o comprimento da corda maior e a área.

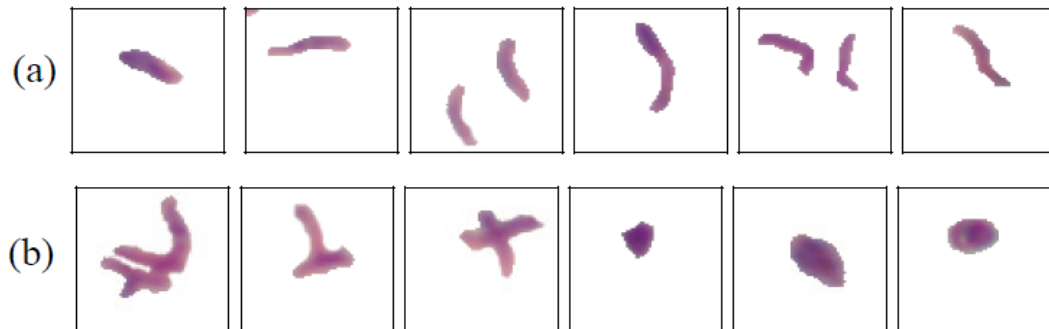
Figura 30 – Representação do raio e centroide de um bacilo



Fonte: Osman, Mashor e Jaafar (2012).

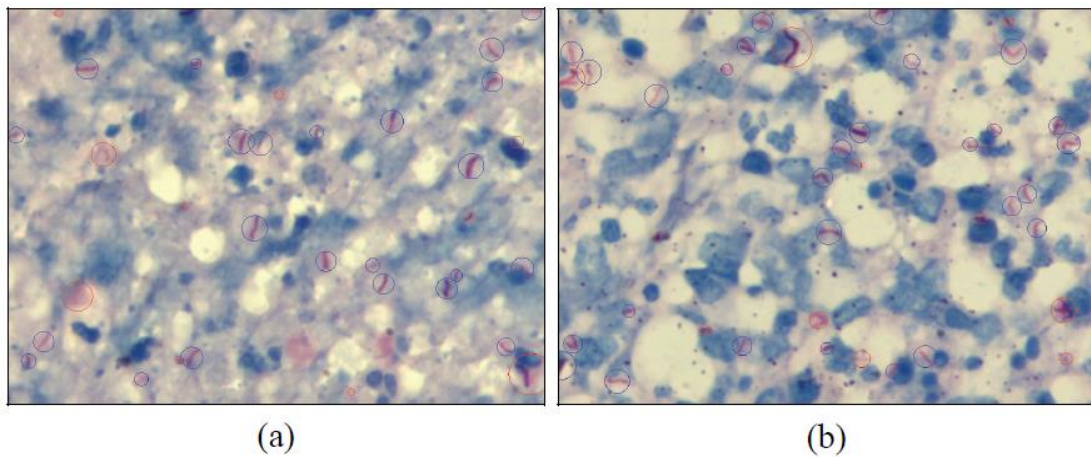
Na quarta e última etapa, foi realizada a detecção e classificação. Todos os atributos extraídos na fase anterior são submetidos ao HMLP-ELM. Com base no número de bacilos e possíveis bacilos, o presente estudo define a Confiança de Detecção (CoD), em porcentagem. Um baixo valor de CoD indica que uma grande quantidade de possíveis bacilos foi detectada na imagem analisada.

Figura 31 – a) bacilos encontrados; b) possíveis bacilos



Fonte: Osman, Mashor e Jaafar (2012).

Figura 32 – Detecção usando a rede HMLP-ELM: a) CoD = 71,79%; b) CoD = 69,70%



Fonte: Osman, Mashor e Jaafar (2012).

4 METODOLOGIA

Esta pesquisa é de natureza aplicada e quantitativa, pois visa gerar conhecimento para aplicação prática, direcionado à solução de problema específico (GIL, 2002).

Jung (2004) afirma que a pesquisa aplicada, ou também conhecida como tecnológica, tem como características a aplicação de conhecimentos, a produção de processos, produtos ou patentes e tende a gerar novas tecnologias e conhecimentos que são decorrentes do processo de pesquisa.

O método de pesquisa que iremos utilizar neste estudo é o *Design Science Research* (DSR), que busca gerar conhecimento sobre a concepção de um protótipo, ou mesmo prescrever uma solução, além de fornecer um procedimento sistemático que orienta a condução de estudos com o objetivo de projetar artefatos ou mesmo prescrever soluções, é composto por construir e avaliar se a solução foi satisfatória em comparação com as existentes. A construção refere-se à construção dos artefatos para um propósito, enquanto é avaliada a verificação do desempenho dos artefatos como uma solução visada (MARCH; SMITH, 1995).

Mesmo que o desenvolvimento de um artefato não seja suficiente para caracterizar uma investigação como pesquisa de ciência de design, é essencial certificar que o dispositivo atingiu os objetivos propostos originalmente pelo pesquisador. Outra característica da pesquisa em ciência do design é que, embora seja uma abordagem orientada para a resolução de problemas, seu objetivo não é desenvolver uma solução ótima, mas sim uma solução satisfatória em comparação com as existentes (DRESCH et al., 2015).

De acordo com Lacerda et al. (2013), a condução da pesquisa deve ser baseada em um artefato viável e que possa ser entregue, um software para processamento e análise de imagens do bacilo de tuberculose, no caso deste trabalho. Outro aspecto relevante é que, embora os problemas abordados pela *Design Science Research* sejam específicos, as soluções devem ser capazes de generalizar uma certa classe de problemas (VAN AKEN, 2004; SEIN et al., 2011; LACERDA et al., 2013).

Na condução do método *Design Science Research*, utilizou-se a orientação descrita por Alan et al. (2004) e exige um "artefato proposital", relevância do problema, avaliação de design, contribuições de pesquisa, design de rigor de pesquisa, design

como processo de busca e comunicação de pesquisa. Além disso, o artefato inclui construções, modelos e métodos que serão aplicados em fase de desenvolvimento e uso do Sistema Especializado.

A *Design Science Research* é sempre descrita que sua principal saída é o desenvolvimento de um produto, mas tem um objetivo mais amplo: gerar conhecimento que seja aplicável e útil para a solução de problemas, melhoria de sistemas já existentes e, ainda, criação de novas soluções e/ou artefatos (VENABLE, 2006).

O método escolhido, *Design Science Research* e demonstrado na figura 33, foi o proposto por Dresch et al. (2015), por ter melhor aderência à proposta deste trabalho.

A primeira etapa compreende a identificação do problema. O modelo de PDI para detecção automática do bacilo de tuberculose, que trata com mais rapidez e eficiência a detecção e conseqüente na contribuição do diagnóstico e início do tratamento, será a base do protótipo que será construído. Então, com a identificação do problema, ter-se-á como saída dessa etapa a questão de pesquisa formalizada (DRESCH et al., 2014), que é: **como realizar a identificação do bacilo da tuberculose de forma eficiente em uma imagem digital, diminuindo o tempo de detecção através da microscopia convencional?**

Na segunda etapa, neste estudo, foi realizada a Revisão Sistemática de Literatura (RSL), descrita no capítulo 3, onde foi realizado a identificação de trabalhos semelhantes e quais modelos e técnicas de PDI foram utilizadas pelos autores para detecção do bacilo de tuberculose.

Na terceira etapa, foram identificados os artefatos e definição da classe de problema. Dresch et al (2014), nesta etapa foi possível, que o pesquisador se depare com um artefato pronto e ideal, que atenda plenamente às suas necessidades para solucionar o problema. Neste estudo, foram identificados três estudos relacionados à detecção automática de tuberculose pulmonar através de técnicas de processamento e análise de imagem digital, utilizando técnicas diferentes. Além disso, o modelo a ser elaborado por este estudo é diferente dos trabalhos mencionados no capítulo 3, especialmente, devido às técnicas de processamento e análise aplicadas neste estudo, e disponibilizadas no OpenCV versão 3.3, que será a ferramenta para desenvolvimento do protótipo proposto neste estudo.

Na quarta etapa, foi realizada a proposição do protótipo para resolver o problema específico, neste estudo foi proposto o desenvolvimento de um protótipo capaz de detectar o bacilo da tuberculose através de técnicas de PDI.

Inicialmente, foi proposto o modelo para detecção dos bacilos de tuberculose através de uma imagem capturada através do microscópio convencional, conforme figura a seguir (FIG. 34). Deixando para estudos posteriores as diversas formas de automação da captura da imagem até a integração com um Sistema Laboratorial, mais conhecido como *Laboratory Information System* (LIS).

Figura 33 – Saídas das etapas da *Design Science Research*

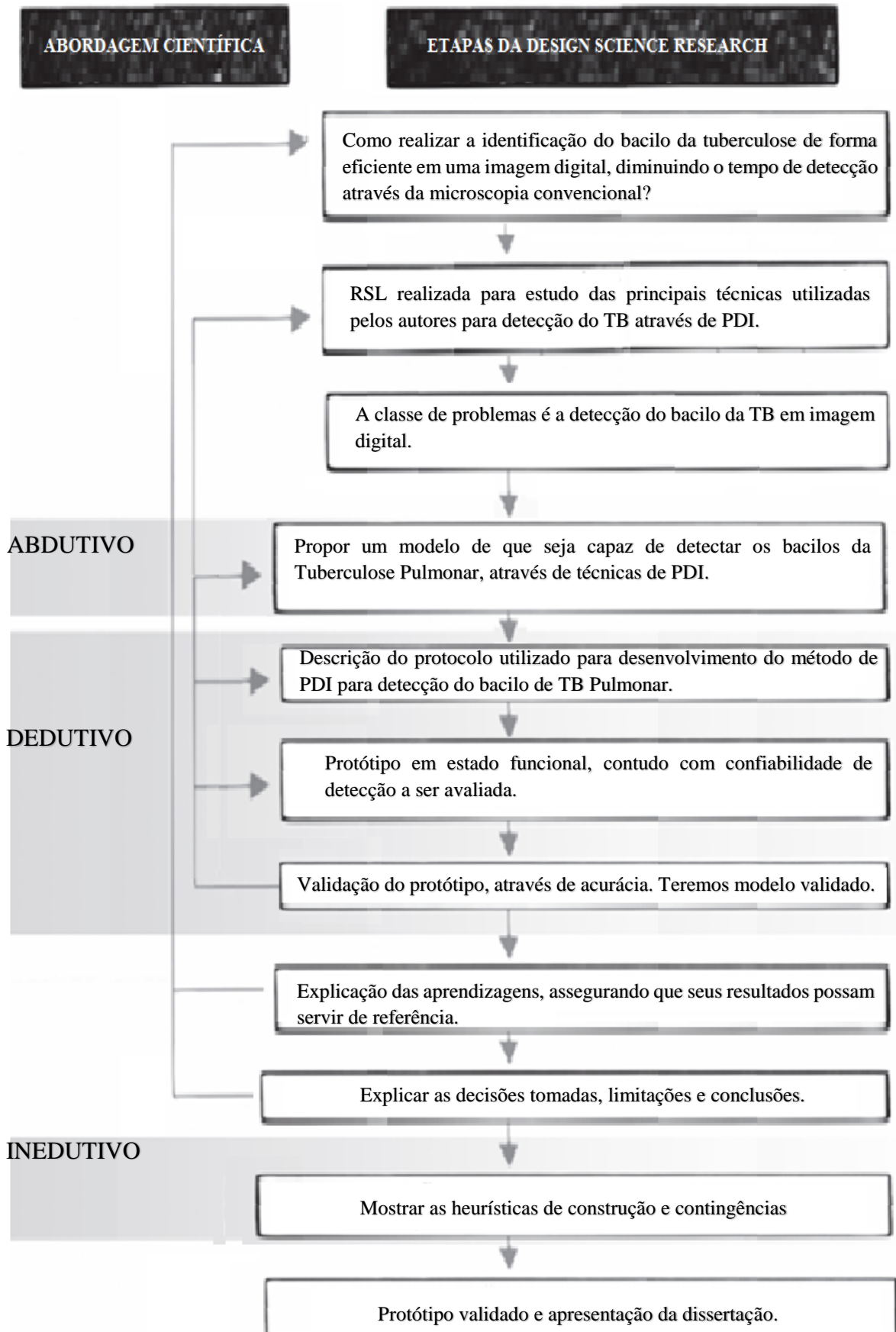
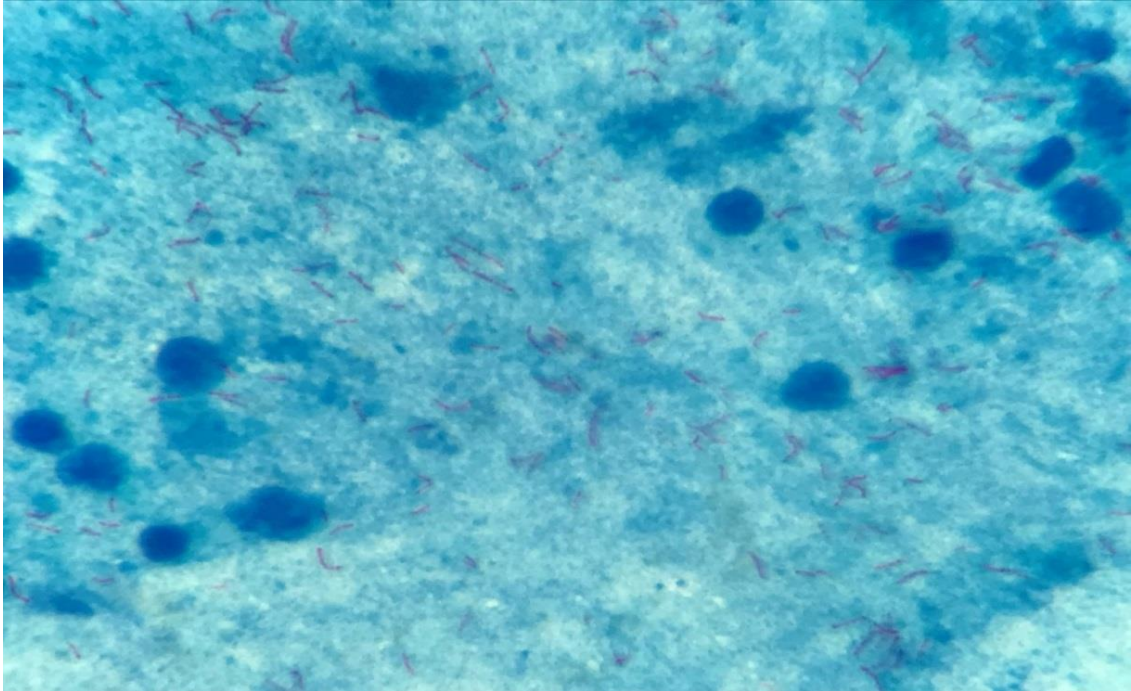


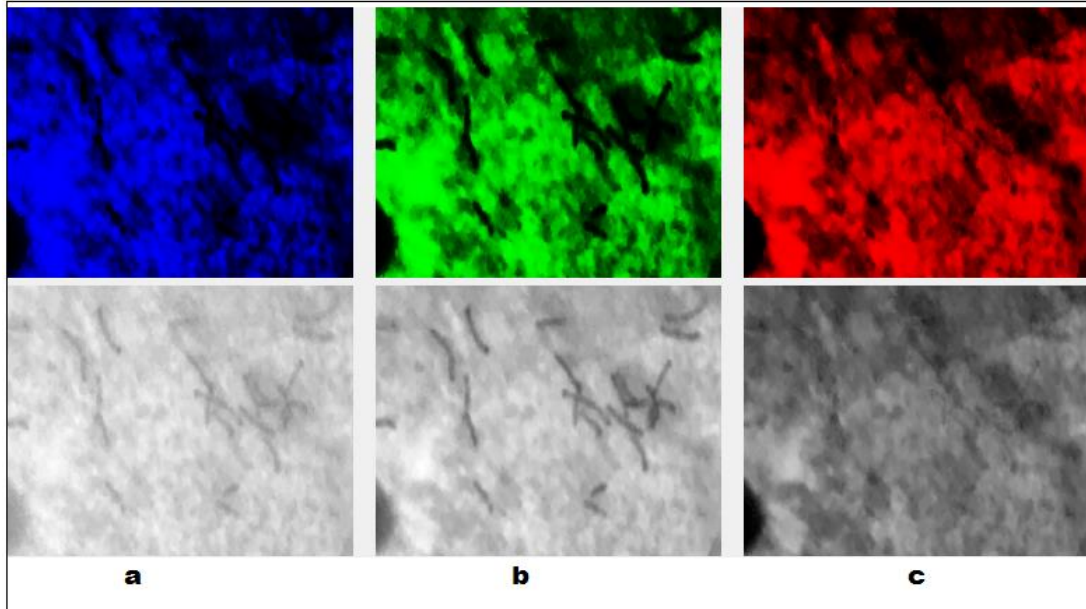
Figura 34 – Imagem microscópica capturada por iPhone, em microscópio com lentes ocular 10x e objetiva 100x



Fonte: elaborado pelo autor.

O primeiro modelo proposto foi composto da separação dos canais de cor, através do processamento da imagem original e, em seguida, da equalização do histograma da imagem, utilizando a função `EqualizeHist()` com valores padrões da biblioteca OpenCV, conforme demonstrado na figura seguinte (FIG. 35).

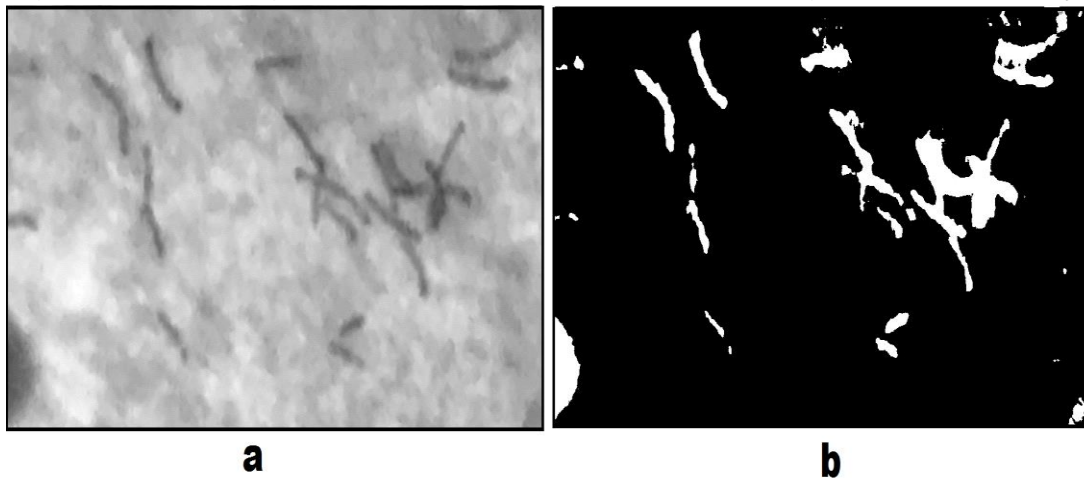
Figura 35 – a) Canal Blue da imagem e resultado da equalização por Histograma; b) Canal Green da imagem e resultado da equalização por Histograma; c) Canal Red da imagem e resultado da equalização por Histograma



Fonte: elaborado pelo autor.

Foi selecionado como entrada o resultado do processamento da imagem apresentada na figura anterior (FIG. 35-b), por estar com os limites de tons de cinza, entre regiões de interesse bem definidos, para aplicar a segmentação por limiarização, conforme ilustrado na figura a seguir (FIG. 36).

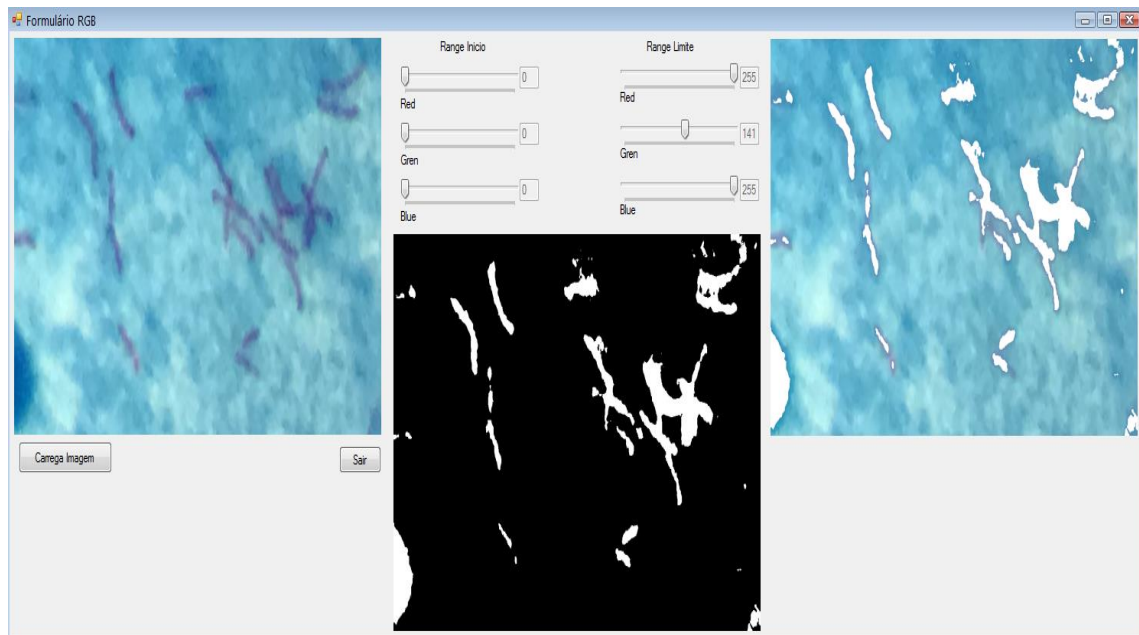
Figura 36 – a) Imagem adquirida do canal Green; b) imagem com limiarização



Fonte: elaborado pelo autor.

A partir dos resultados obtidos com a limiarização aplicada em imagens com escala de cinza, e antes de chegar ao modelo final, foi proposto outro modelo, utilizando a limiarização sem a transformação da imagem para escala de cinza, utilizando os canais coloridos. A proposta consistiu em definir dois *arrays* com as mesmas características da imagem original. O primeiro *array*, contendo os limites inferiores para cada um dos canais da imagem; e o segundo *array*, contendo os limites superiores, também para cada canal de cor da imagem, parametrizados conforme figura a seguir (FIG. 37).

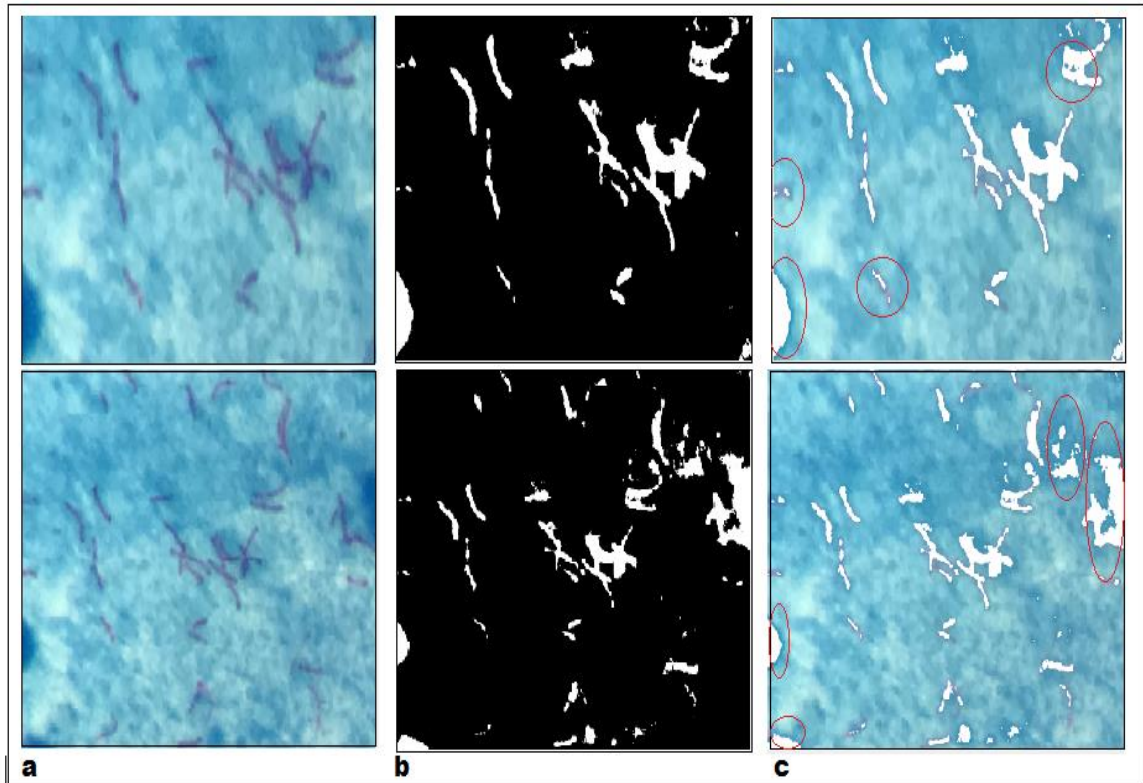
Figura 37 – Tela de parametrização e processamento de imagem



Fonte: elaborado pelo autor.

De posse dos limites mínimo e máximo, efetua-se a captura dos POIs contidos dentro dos limites definidos, gerando assim um terceiro *array* (FIG. 38-b), que será utilizado juntamente com a imagem original (FIG. 38-a), na aquisição da imagem processada, conforme figura a seguir (FIG. 38-c), deixando evidente os pontos encontrados nesta. Contudo, após estas operações, observou-se que se tratava de um método não eficiente para o protótipo proposto, pois nas interseções das cores dos bacilos e do azul da placa não efetuava limiarização desejada. Ora pegando regiões não desejadas, ora deixando de selecionar POIs de grande importância, conforme destacado com círculos na figura a seguir (FIG. 38-c).

Figura 38 – a) Imagens originais; b) imagens com *threshold*; c) imagens processadas



Fonte: elaborado pelo autor.

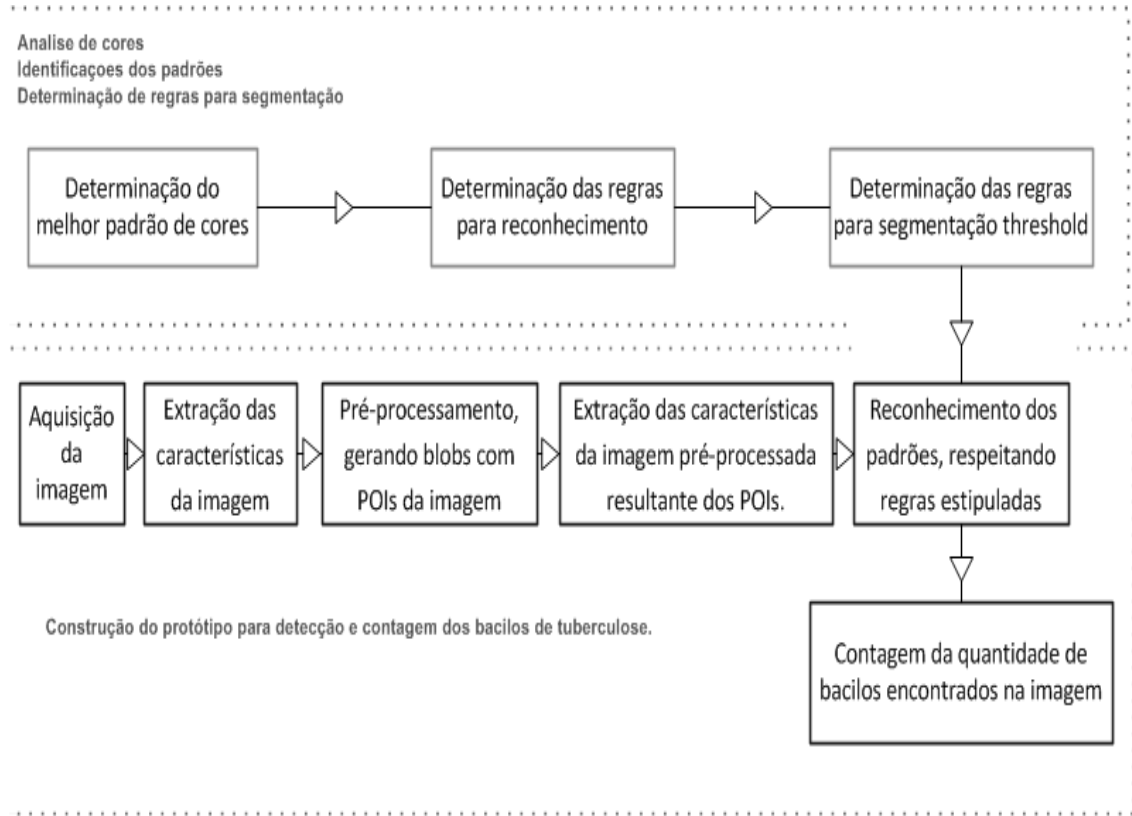
Foram testadas diversas técnicas de processamento de imagens. Foram testados ainda filtros, conversão de espaços de cores, equalização de histograma, alteração de brilho e contrastes, algoritmos de segmentação de imagens, cálculos de áreas dos artefatos identificados e cálculo de perímetro. Chegando, assim, ao modelo capaz de detectar o bacilo da tuberculose pulmonar.

Depois de realizado o reconhecimento e, conseqüentemente, a detecção dos POIs dos bacilos da tuberculose, foi realizada ainda a contagem destes POIs, determinando assim a contagem dos bacilos da tuberculose na imagem processada e analisada através do PDI, pelo protótipo denominado DetecBAAR.

Na quinta etapa foi definido o projeto do protótipo, neste trabalho denominado protótipo. Onde foram descritas as fases do desenvolvimento do modelo, do protótipo que foi desenvolvido em linguagem C#, utilizando a biblioteca de visão computacional OpenCV para aprimorar a imagem através de filtros e o processo de segmentação.

Para melhor entendimento dos procedimentos de construção e validação do protótipo, estes foram demonstrados de forma mais didática na figura a seguir (FIG. 39).

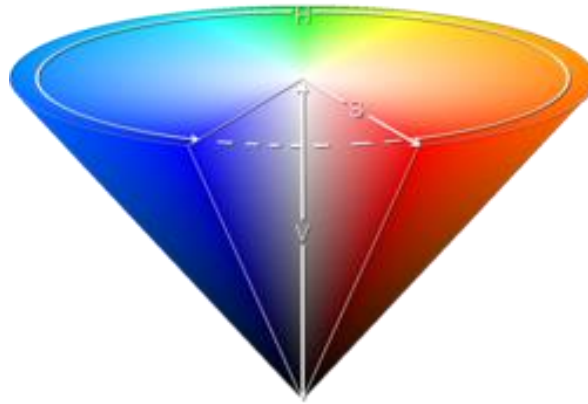
Figura 39 – Fases do desenvolvimento do protótipo



Fonte: elaborado pelo autor.

Nesta fase, ainda na quinta etapa do *Design Science Research*, foi realizada a análise e determinação do melhor espaço de cores para trabalho com algoritmos de segmentação limiarização. O espaço de cores que melhor se encaixou no modelo proposto e implementado foi o HSV, utilizado na biblioteca OpenCV. O espaço de cores HSV trata-se de uma transformação não linear do espaço de cores RGB. Este modelo de cores emula, de perto, modelos de percepção de cores humanas, enquanto em outros modelos de cor, como o RGB, uma imagem é tratada como um resultado aditivo de das três cores primárias (GARCÍA et al., 2015). Os três canais HSV são compostos por Hue (matiz) ou tonalidade, abrange todas as cores compostas pelo espaço de cor RGB. *Saturation* (saturação) ou pureza, e *Value* (valor) ou brilho, demonstrado na figura a seguir (FIG. 40). Em outras palavras, a cor é definida a partir de uma combinação simples de cores primárias. Com esta característica a segmentação com imagens neste padrão se torna mais eficiente, pois é possível identificar um limite maior de cores com mais facilidade e com algoritmos de menor complexidade, tornando o processamento e análise da imagem mais rápidos e eficientes.

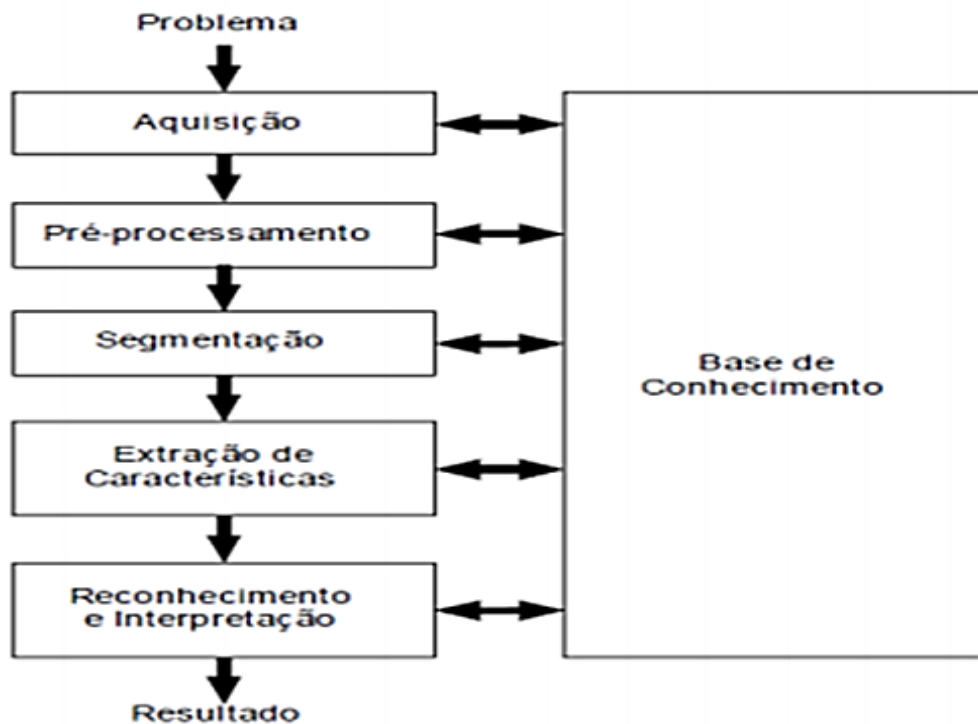
Figura 40 – Representação gráfica do espaço de cor HSV



Fonte: Color (2017).

Na sexta etapa, onde foi desenvolvido o modelo e, conseqüentemente, o protótipo para validar o modelo proposto, foram consideradas as etapas básicas de um sistema de processamento de digital de imagens, proposto por Pedrini e Schwartz (2008).

Figura 41 – Etapas de um sistema de Processamento de imagens



Fonte: Pedrini e Schwartz (2008).

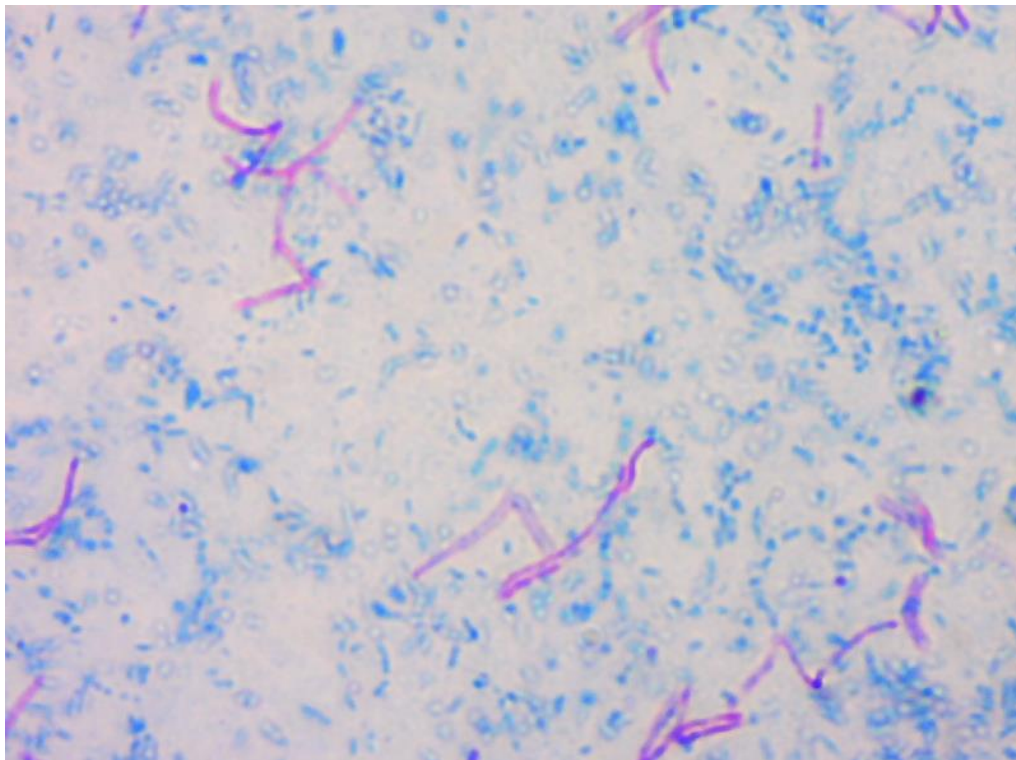
4.1 Aquisição

Nesta etapa foi capturada uma imagem digital de uma lâmina corada com técnica de coloração Ziehl-Neelsen, através do microscópio convencional com lentes ocular de 10x e objetiva de 100x OIL.

Para a primeira imagem adquirida, foi utilizado uma câmera acoplada a um celular iPhone 7 com 12 MP, zoom digital de 10x, lentes grande-angular com abertura $f/1.8$ e teleobjetiva com abertura de $f/2.8$, conforme demonstrado em figura anterior (FIG. 34).

Para a segunda imagem adquirida, conforme figura a seguir (FIG. 42), foi utilizada uma camera digital de 8 *megapixels* para microscópio, modelo *USB câmera de vídeo CCD biológico microscópio*, que foi acoplada a um microscópio comum.

Figura 42 – Imagem microscópica, captura por câmera, *USB câmera de vídeo CCD biológico microscópio*, em microscópio com lentes ocular 10x e objetiva 100x



Fonte: elaborado pelo autor.

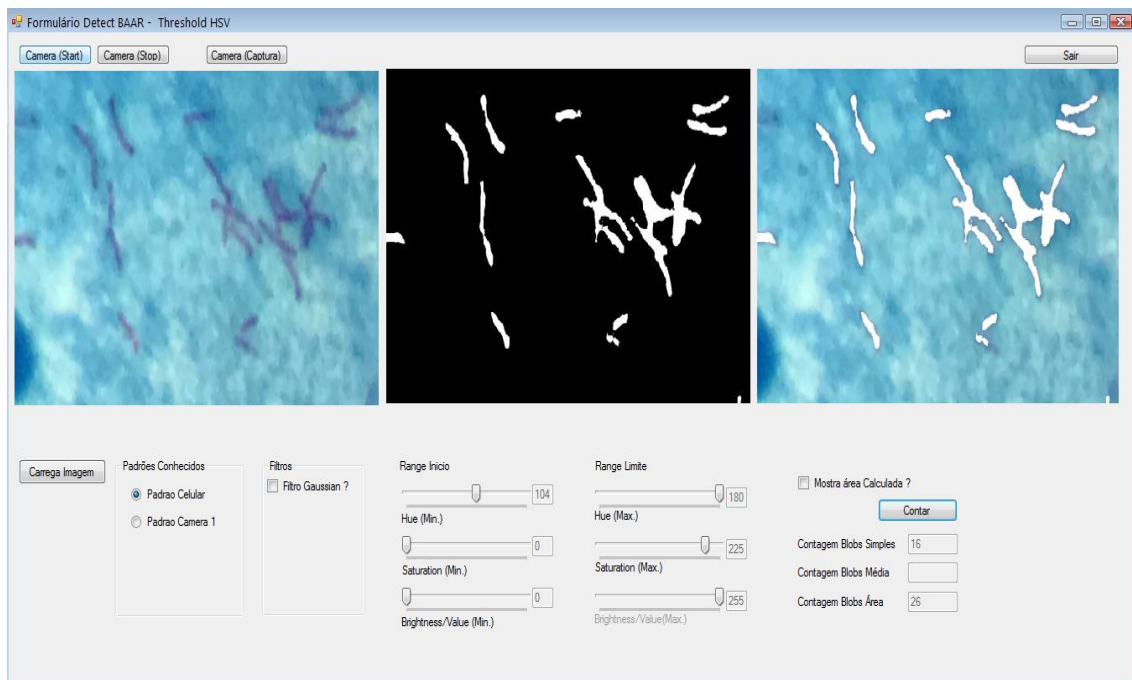
4.2 Pré-processamento

As imagens das lâminas foram apenas redimensionadas de acordo com a função `PyrDown()` da biblioteca OpenCV, que normaliza e diminuiu a imagem, sem perda de informação, através da utilização de cálculos matemáticos, melhorando o desempenho do processamento da mesma.

4.3 Segmentação

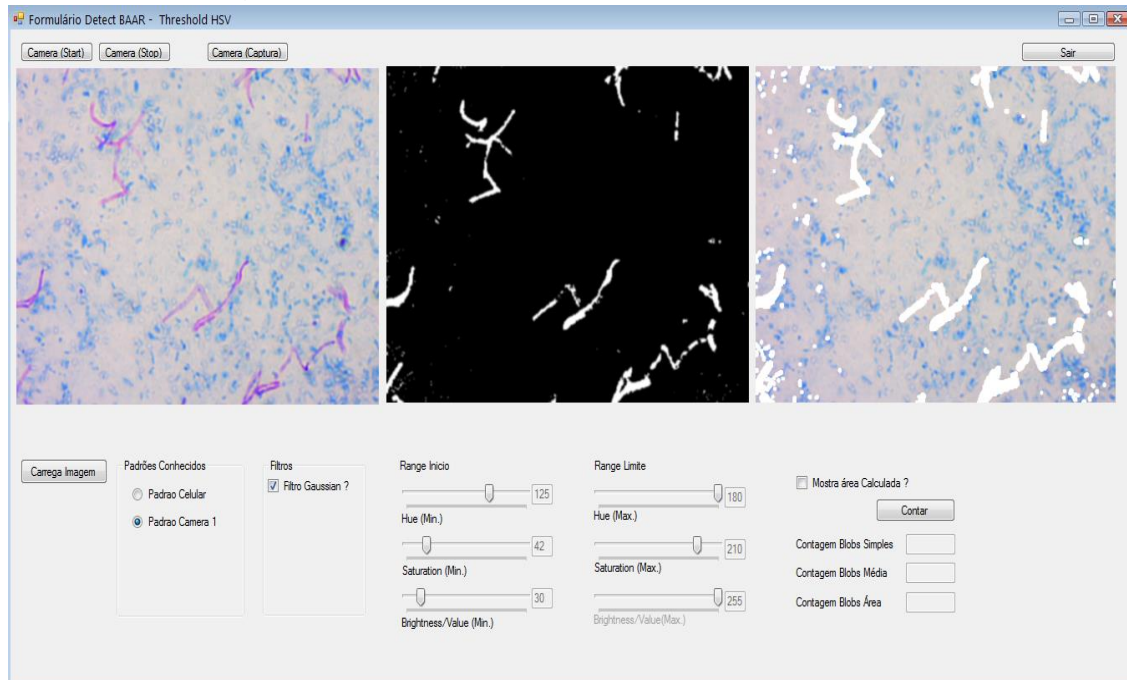
A segmentação por limiarização, foi utilizada para a seleção da região de interesse a ser trabalhada, conforme figuras a seguir (FIG. 43 e 44).

Figura 43 – Processamento e segmentação Imagem capturada por iPhone 7



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 44 – Imagem processada e segmentada, capturada por, *USB câmera de vídeo CCD biológico microscópio*

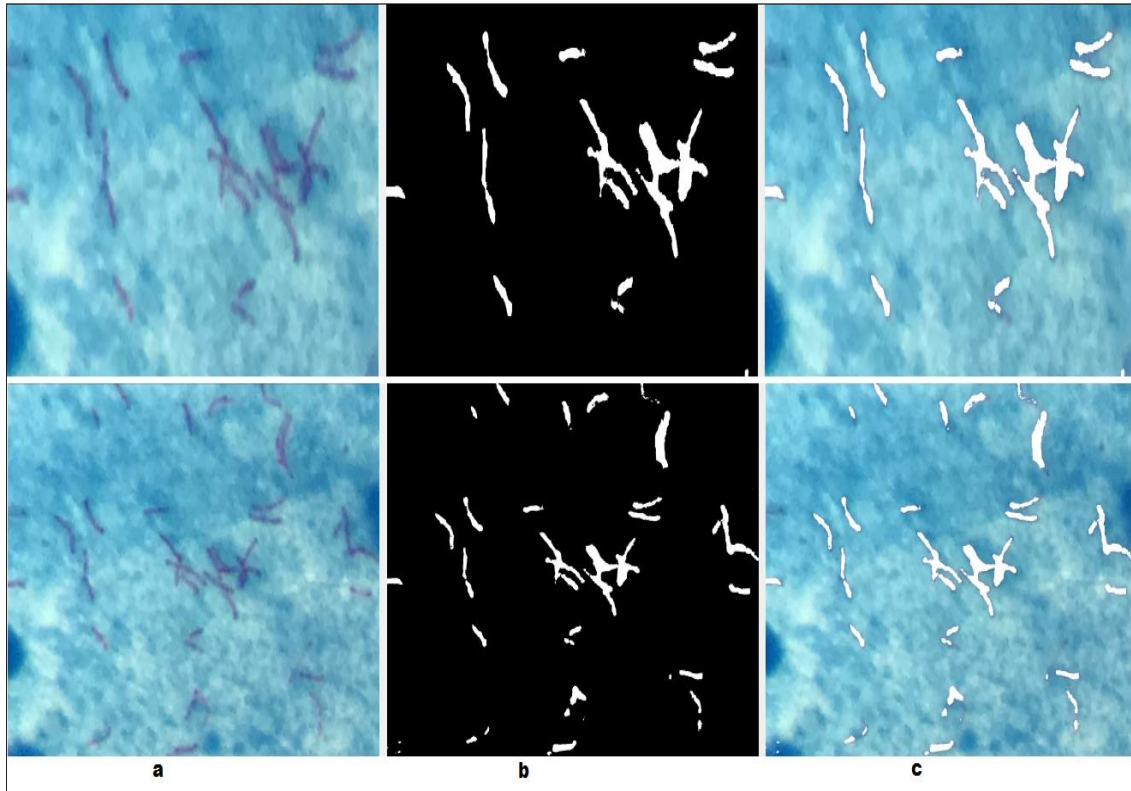


Fonte: elaborado pelo autor.

4.4 Extração de características

Os atributos utilizados para caracterizar as imagens foram extraídos para a detecção automática do bacilo da tuberculose pulmonar, tais como área e perímetro dos POIs encontrados, conforme figura a seguir (FIG. 45).

Figura 45 – a) Imagens originais b) imagens segmentadas por limiarização c) imagens processadas e analisadas

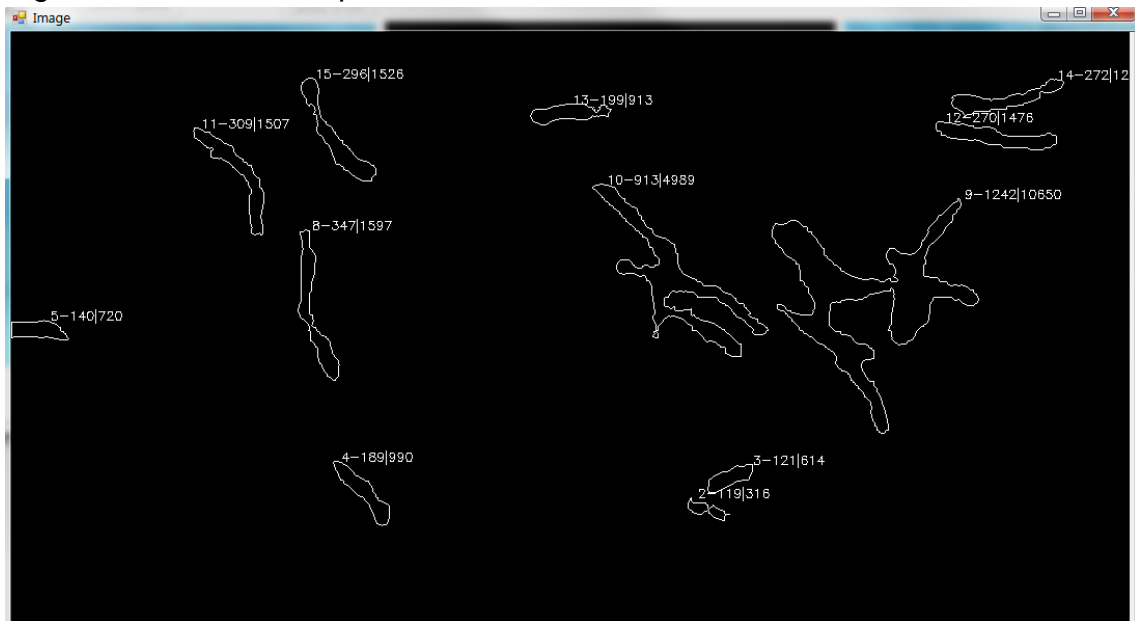


Fonte: elaborado pelo autor.

4.5 Reconhecimento e interpretação

As regiões segmentadas e caracterizadas foram reconhecidas, conforme figura a seguir (FIG. 46), através da junção dos vários algoritmos aplicados, determinando a área e o perímetro dos POIs encontrados a partir dos parâmetros, limites de cores, áreas e perímetro de um bacilo, fornecidos e parametrizados.

Figura 46 – Áreas e os perímetros dos POIs encontrados



Fonte: elaborado pelo autor.

4.6 Resultado

O resultado obtido a partir do processamento e análise da imagem capturada será demonstrado no capítulo 5, de resultados.

Na etapa de **avaliação do protótipo**, neste estudo denominado DetctBAAR, são analisados os resultados através de acurácia, utilizando parâmetros e cálculos dos POIs, os quais estão disponíveis no capítulo de resultados, capítulo 5. A saída desta etapa é o modelo já validado.

Após a validação do protótipo, nas próximas etapas, serão **explicitadas as aprendizagens**, de forma que possam ser consultadas como referências posteriormente; juntamente com as **conclusões** sobre o trabalho e protótipo proposto, que serão demonstradas no capítulo 6, de conclusões. Então, ao final, haverá a entrega da dissertação e a submissão do protótipo desenvolvido neste estudo ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), que é o órgão responsável pela análise do pedido de registro de marcas e patentes no Brasil.

5 RESULTADOS

É sabido que a sensibilidade média da baciloscopia direta é de aproximadamente 50% a 60%, na dependência da qualidade do espécime, da extensão de doença, da técnica de coloração e da experiência do laboratório (ASN, 2011). Diante das limitações com relação à disponibilidade de laboratório e de pessoal técnico para realizar todos os experimentos para avaliar o método automático desenvolvido nesse trabalho, adotou-se uma estratégia mais simplificada, semiquantitativa. No futuro próximo, será consolidada uma colaboração com a Fundação Ezequiel Dias (FUNED), para que o software possa ser validado com variações das diversas condições determinantes para a detecção de BAAR. As amostras de escarro com resultado positivo para a tuberculose podem ser classificadas como +, de 50.000 a 300.000 BAAR/ml; ++, de 300.000 a 500.000 BAAR/ml; e +++, acima de 500.000 BAAR/ml. Neste trabalho, utilizou-se amostras positivas do tipo ++ e +++, realizando-se a contagem visual e a contagem automática, comparando-as.

O processo de desenvolvimento do software e, depois, da avaliação do seu funcionamento, foi feito em três momentos distintos. Nas condições de disponibilidade dos equipamentos e de pessoal técnico, foi possível avaliar a precisão do sistema de forma semi-quantitativa, para algumas poucas configurações do protótipo, sem uma exploração muito ampla de variação de condições do experimento. As medidas realizadas indicam que o protótipo tem uma margem de erro pequena com relação à observação visual e fornece o resultado em alguns segundos, ao passo que o processo visual pode durar várias horas. Com os experimentos realizados, foi possível determinar procedimentos a serem melhorados e testados para se melhorar o protótipo, levando em consideração, principalmente, a relação custo-benefício do equipamento futuro. Na primeira etapa, o aplicativo foi otimizado com a utilização de imagens de lâminas obtidas em artigos científicos, trabalhando diretamente na interface do software e nas imagens.

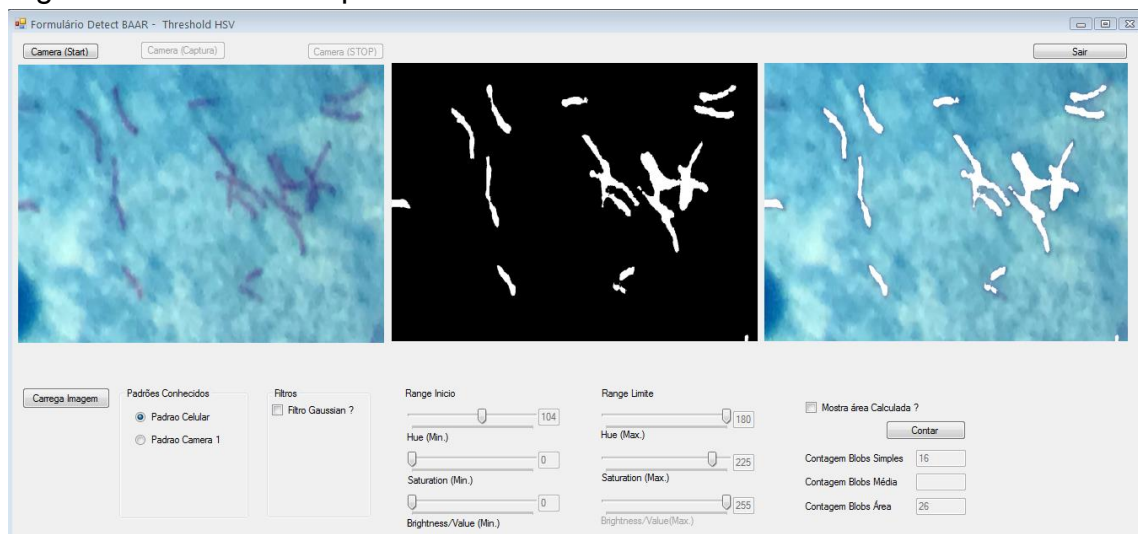
No momento seguinte, com o software funcionando, foi utilizada uma câmera, conectada ao computador e acoplada à ocular do microscópio, para gerar a imagem e avaliar a precisão do experimento. Nessa segunda etapa, que será detalhada mais à frente, o aparato experimental utilizou um microscópio Nikon E200, com três diferentes câmeras fotográficas acopladas, para gerar as imagens das lâminas com

as amostras, preparadas pelo processo de coloração Ziehl-Neelsen. Os especialistas que prepararam as amostras também fizeram a contagem visual dos bacilos, nas lâminas analisadas pelo software. A disponibilidade do microscópio foi, por intervalos de tempo, limitada e os resultados não puderam ser obtidos de forma criteriosa e sistemática. No entanto, eles permitiram testar diferentes configurações de câmeras e prever melhorias a serem implementadas no futuro próximo.

Na etapa final do projeto, o laboratório de patologia do curso de Biomedicina da Universidade FUMEC gentilmente cedeu o microscópio Olympus CX23, para que os experimentos fossem finalizados, juntamente com a técnica responsável pelo laboratório. Os pesquisadores do Instituto Octávio Magalhães, da Fundação Ezequiel Dias, gentilmente cederam lâminas preparadas para que os experimentos de precisão do protótipo pudessem ser realizados.

A figura a seguir (FIG. 47) ilustra a tela do protótipo onde é realizada a aquisição das características através de imagem, já capturada por meio de câmera 12 *megapixels* com zoom de 8x, de um celular iPhone 7. Analisando a figura (FIG. 47), pode-se observar que: a imagem da esquerda é a imagem original, somente decomposta com espaço de cor HSV; a imagem do centro é a imagem já processada e com a segmentação *threshold* aplicada para encontrar os POIs; por fim, a imagem da direita demonstra nitidamente os bacilos da tuberculose, antes com tonalidade rosa, depois com tonalidade branca.

Figura 47 – Áreas e os perímetros dos POIs encontrados



Fonte: elaborado pelo autor.

A tabela a seguir (TAB. 2), é demonstrada a relação das contagens realizadas na segunda etapa do experimento, por especialistas e pelo protótipo DetectBAAR.

Tabela 2 – Contagem por especialista vs contagem pelo protótipo

Contagem especialista vs protótipo (imagem celular)		
Descrição da captura	Especialista	Protótipo
Imagem 1 - Lamina 1	23	22
Imagem 2 - Lamina 1	38	36
Imagem 1 - Lamina 2	16	16
Imagem 1 - Lamina 2	23	22

Fonte: elaborado pelo autor.

A figura a seguir (FIG. 48), ilustra a tela do protótipo, onde a aquisição da imagem é realizada através de câmera para microscópio modelo, *USB câmera de vídeo CCD biológico microscópio estéreo ocular eletrônico com anel adaptador de captura de imagem industrial 23.2 30 30.5mm*, acoplada ao microscópio Nikon modelo E200. A imagem da esquerda é a imagem original, somente decomposta com espaço de cor HSV; a imagem do centro é a imagem já processada e com a segmentação *threshold* aplicada para encontrar os POIs; por fim, a imagem da direita demonstra nitidamente os bacilos da tuberculose, antes com tonalidade rosa, depois com tonalidade branca.

Figura 48 – Áreas e os perímetros dos POIs encontrados



Fonte: elaborado pelo autor.

Na tabela a seguir (TAB. 3), é demonstrada a relação das contagens realizadas por especialistas e pelo protótipo DetectBAAR, através de imagem adquirida através de câmera acoplada ao microscópio.

Tabela 3 – Contagem por especialista vs contagem pelo protótipo

Contagem especialista vs protótipo (captura câmera acoplada)		
Descrição da captura	Especialista	Protótipo
Imagem 1 - Lamina 1	27	25
Imagem 2 - Lamina 1	38	36
Imagem 1 - Lamina 2	16	16
Imagem 2 - Lamina 2	23	22

Fonte: elaborado pelo autor.

Na tabela a seguir (TAB. 4), é demonstrada a relação das contagens realizadas por especialistas e pelo protótipo DetectBAAR, através de imagem adquirida através de câmera 1, acoplada ao microscópio.

Tabela 4 – Câmera 1

Câmera 1		
Nome Imagem	Contagem visual	Contagem automática
Camera1-validacao-1600-1200-01	2	2
Camera1-validacao-1600-1200-02	0	0
Camera1-validacao-1600-1200-03	0	0
Camera1-validacao-1600-1200-04	1	1
Camera1-validacao-1600-1200-05	3	3
Camera1-validacao-1600-1200-06	2	2
Camera1-validacao-1600-1200-07	1	1
Camera1-validacao-1600-1200-08	7	8
Camera1-validacao-1600-1200-09	5	6
Camera1-validacao-1600-1200-10	1	1
Camera1-validacao-1600-1200-11	3	3
Camera1-validacao-1600-1200-12	5	6
Camera1-validacao-1600-1200-13	1	1
Camera1-validacao-1600-1200-14	2	2
Camera1-validacao-1600-1200-15	0	0
Camera1-validacao-1600-1200-16	2	2
Camera1-validacao-1600-1200-17	5	5
Camera1-validacao-1600-1200-18	8	9
Camera1-validacao-1600-1200-19	4	4
Camera1-validacao-1600-1200-20	8	9
Camera1-validacao-1600-1200-21	4	4
Camera1-validacao-1600-1200-22	1	1
Camera1-validacao-1600-1200-23	2	2
Camera1-validacao-1600-1200-24	1	1
Camera1-validacao-1600-1200-25	0	0
Camera1-validacao-1600-1200-26	2	2
Camera1-validacao-1600-1200-27	1	0
Camera1-validacao-1600-1200-28	3	3
Camera1-validacao-1600-1200-29	2	1
Camera1-validacao-1600-1200-30	1	2
TOTAL	77	81

Fonte: elaborado pelo autor.

Já na tabela a seguir (TAB. 5), também é demonstrada a relação das contagens realizadas por especialistas e pelo protótipo DetectBAAR, através de imagem adquirida através de câmera 2, acoplada ao microscópio.

Tabela 5 – Câmera 2

Câmera 2		
Nome Imagem	Contagem visual	Contagem automática
Camera2-validacao-1600-1200-01	11	11
Camera2-validacao-1600-1200-02	3	4
Camera2-validacao-1600-1200-03	5	5
Camera2-validacao-1600-1200-04	8	8
Camera2-validacao-1600-1200-05	8	7
Camera2-validacao-1600-1200-06	8	8
Camera2-validacao-1600-1200-07	10	10
Camera2-validacao-1600-1200-08	5	7
Camera2-validacao-1600-1200-09	4	4
Camera2-validacao-1600-1200-10	5	8
Camera2-validacao-1600-1200-11	3	3
Camera2-validacao-1600-1200-12	6	5
Camera2-validacao-1600-1200-13	8	9
Camera2-validacao-1600-1200-14	1	1
Camera2-validacao-1600-1200-15	3	4
Camera2-validacao-1600-1200-16	6	5
Camera2-validacao-1600-1200-17	9	7
Camera2-validacao-1600-1200-18	0	0
Camera2-validacao-1600-1200-19	1	0
Camera2-validacao-1600-1200-20	3	3
TOTAL	107	109

Fonte: elaborado pelo autor.

A seguir, foram realizados novos experimentos, utilizando lâminas produzidas no Instituto Octávio Magalhães, da Fundação Ezequiel Dias. Nessa configuração, foi utilizado o microscópio Olympus CX23, com a ajuda técnica do laboratório de microbiologia da Universidade FUMEC. As condições de iluminação não puderam ser alteradas e controladas, o que poderia melhorar o contraste da amostra e a qualidade do sinal que chega à câmera. As tabelas a seguir, (TAB. 6) e (TAB. 7), exibem a relação das contagens realizadas por especialista e pelo protótipo DetectBAAR, levando em consideração a classificação das lâminas, pela quantidade de cruces, isto é, da população de bacilos por volume, disponibilizada pela Fundação Ezequiel Dias.

Tabela 6 – Lâmina 1 (+ + +)

Lâmina 1 (+ + +)		
Nome Imagem	Contagem visual	Contagem automática
Camera2-validacao-1600-1200-01	11	11

(continua)

(conclusão)

Lâmina 1 (+ + +)		
Nome Imagem	Contagem visual	Contagem automática
Camera2-validacao-1600-1200-02	3	4
Camera2-validacao-1600-1200-03	5	5
Camera2-validacao-1600-1200-04	8	8
Camera2-validacao-1600-1200-05	8	7
Camera2-validacao-1600-1200-06	8	8
Camera2-validacao-1600-1200-07	10	10
Camera2-validacao-1600-1200-08	5	7
Camera2-validacao-1600-1200-09	4	4
Camera2-validacao-1600-1200-10	5	8
Camera1-validacao-1600-1200-01	2	2
Camera1-validacao-1600-1200-02	0	0
Camera1-validacao-1600-1200-03	0	0
Camera1-validacao-1600-1200-04	1	1
Camera1-validacao-1600-1200-05	3	3
Camera1-validacao-1600-1200-06	2	2
Camera1-validacao-1600-1200-07	1	1
Camera1-validacao-1600-1200-08	7	8
Camera1-validacao-1600-1200-09	5	6
Camera1-validacao-1600-1200-10	1	1
Camera1-validacao-1600-1200-11	3	3
Camera1-validacao-1600-1200-12	5	6
Camera1-validacao-1600-1200-13	1	1
Camera1-validacao-1600-1200-14	2	2
Camera1-validacao-1600-1200-15	0	0
Camera1-validacao-1600-1200-16	2	2
Camera1-validacao-1600-1200-17	5	5
Camera1-validacao-1600-1200-18	8	9
Camera1-validacao-1600-1200-19	4	4
Camera1-validacao-1600-1200-20	8	9
TOTAL	127	137

Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 7 – Lâmina 2 (+ +)

Lamina 2 (+ +)		
Nome Imagem	Contagem visual	Contagem automática
Camera1-validacao-1600-1200-21	4	4
Camera1-validacao-1600-1200-22	1	1
Camera1-validacao-1600-1200-23	2	2
Camera1-validacao-1600-1200-24	1	1
Camera1-validacao-1600-1200-25	0	0
Camera1-validacao-1600-1200-26	2	2
Camera1-validacao-1600-1200-27	1	0
Camera1-validacao-1600-1200-28	3	3
Camera1-validacao-1600-1200-29	2	1
Camera1-validacao-1600-1200-30	1	2
Camera2-validacao-1600-1200-11	3	3
Camera2-validacao-1600-1200-12	6	5
Camera2-validacao-1600-1200-13	8	9
Camera2-validacao-1600-1200-14	1	1
Camera2-validacao-1600-1200-15	3	4
Camera2-validacao-1600-1200-16	6	5
Camera2-validacao-1600-1200-17	9	7

(continua)

(conclusão)

Lamina 2 (+ +)		
Nome Imagem	Contagem visual	Contagem automática
Camera2-validacao-1600-1200-18	0	0
Camera2-validacao-1600-1200-19	1	0
Camera2-validacao-1600-1200-20	3	3
TOTAL	57	53

Fonte: elaborado pelo autor.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

6.1 Objetivos alcançados

Este estudo teve como objetivo principal a implementação de um protótipo de software, denominado DetectBAAR, capaz de reconhecer e contar os bacilos da tuberculose através do Processamento Digital de Imagem, previamente capturadas com utilização de câmeras digitais acopladas, ou não, a um microscópio utilizado por especialista para realizar a contagem dos bacilos através do processo manual.

Foram propostos métodos e técnicas para o tratamento de problemas encontrados no processo manual de contagem do bacilo da tuberculose, atualmente realizada por especialistas laboratoriais. Contudo, o protótipo de software mostrou ser sensível ao tratamento de imagens capturadas em condições de iluminação não controladas, logo, em um trabalho futuro, poderão ser realizados testes de aprimoramento destas condições de iluminação, além de adição de filtros óticos para melhor decomposição das cores obtidas das lâminas coradas através do processo de coloração Ziehl-Neelsen.

Sistemas de processamento de imagens demonstram uma abordagem extremamente atrativa para pesquisa e desenvolvimento na área de saúde e análises laboratoriais, estimulando uma crescente demanda por novas metodologias, tecnologia e soluções na detecção de outras bactérias microscópicas, ou não, que possam ser capturas em imagem digital.

Os resultados experimentais comprovam os objetivos alcançados por este trabalho e, este protótipo pode ser útil na geração de novos trabalhos de detecções de outras doenças que ainda não foram automatizadas e que podem se enquadrar nas metodologias de tratamento dos padrões de cor utilizadas neste trabalho. Melhorias que já estão sendo estudadas e implementadas, baseadas nos experimentos e na construção do código, deverão tornar o sistema mais robusto, preciso e com melhor acurácia e maior rapidez na parametrização do software.

6.2 Trabalhos futuros

Destacam-se como trabalhos futuros para a validação e melhoria do protótipo algumas ações a serem empreendidas:

- a) pesquisar e implementar a utilização de filtros óticos acoplados ao microscópio, eliminando ruídos de cores e falta de ambiente controlado para aquisição das imagens;
- b) aquisição de câmeras de melhor qualidade poderá ser um diferencial na aquisição de imagens, podendo trazer maior assertividade à detecção e uma contagem mais precisa;
- c) uso da versão mais recente do software OpenCV, que podem trazer melhores algoritmos de segmentação e captura;
- d) estender as parametrizações da câmera para captura automática para o protótipo, facilitando a validação do conjunto microscópio, câmera;
- e) aprimorar algoritmos de segmentação para maior eficiência de processamento e gerar saída da contagem dos bacilos, para que sejam utilizadas em um LIS;
- f) aprimorar o software de detecção e contagem de bacilos da tuberculose, que está funcionando e registrado no INPI, melhorando sua interface e portabilidade;
- g) aprimorar o modelo de PDI, que é atualmente capaz de processar, analisar e identificar o bacilo da tuberculose pulmonar;
- h) otimizar o hardware e equipamentos, para obter a melhor razão custo-benefício, tendo em foco os usuários do produto e sua disseminação;
- i) avaliar o protótipo com a expertise da Fundação Ezequiel Dias, como detalhado na metodologia; e
- j) ajustar o protótipo, se necessário, para obter melhor eficiência e relação custo-benefício.

REFERÊNCIAS

ALAN, R. H. et al. Design science in information systems research. **MIS quarterly**, Springer, v. 28, n. 1, p. 75-105, 2004.

AMARAL, Jônatas Bussador do; BRANCO, Paola Cristina. Microscopia eletrônica em materiais biológicos: princípios básicos e aplicações. **Biocel-USP**, São Paulo. Disponível em: <<http://lab-siviero.icb.usp.br/biocel/modulos/T%C3%A9cnicas/>>. Acesso em: 23 jun. 2017.

ATALLAH, A. N.; CASTRO, A. A. **Revisão sistemática e metanálises em: evidências para melhores decisões clínicas**. São Paulo: Lemos Editorial, 1998.

BOECHAT, Gláucya Carreiro. **Proposta de um modelo de arquitetura biométrica para identificação pessoal com estudo da dinâmica da digitação**. 2008. 67 f. Dissertação (Mestrado) – Ciência da Computação, Recife-PE, 2008.

BRASIL. Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços. Instituto Nacional de Propriedade Industrial. **NPI-BR102014031562-4A2**. 19 jul. 2016. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/144567/INPI-BR102014031562-4A2.pdf>>. Acesso em: 26 jul. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Saúde (ANS). **Tuberculose Pulmonar: diagnóstico – técnicas convencionais**. Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia e Agência Nacional de Saúde Suplementar. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim epidemiológico: especial tuberculose**. Brasília: Ministério da Saúde. v. 47, mar. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim epidemiológico: especial tuberculose**. Brasília: Ministério da Saúde. v. 48, mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Centro de Referência Professor Hélio Fraga. **Manual de bacteriologia da tuberculose**. 3. ed. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 2005. Disponível em: <<http://www.saude.mt.gov.br/upload/documento/81/manual-de-bacteriologia-da-tuberculose-%5B81-080909-SES-MT%5D.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Técnicas de aplicação e leitura da prova tuberculina**. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de recomendações para o controle**

da tuberculose no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, 2011. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

COLOR, calculator and generator with high precision and contrast test. Converts also RGB, HEX, HSL, HSV/HSB, CMYK and CIE-LAB colors and lots of other formats. In the Hex-field, you can write a known color name, too. **Colorizer.org**, 2017. Disponível em: <<http://colorizer.org/>>. Acesso em: 28 nov. 2017.

COMBS, D. L.; O'BRIEN, R. J.; O'BRIEN, L. J. USPHS Tuberculosis ShortCourse Chemotherapy Trial 21: effectiveness, toxicity, and acceptability. The report of final results. **Ann Intern Med.**, v. 112, n. 6, p. 397-406, 1990.

COUTINHO, Alexandre Camargo. **Segmentação e classificação de imagens Landsat-TM para o mapeamento dos usos da terra na região de Campinas-SP.** 1997. 161 f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Ecologia Geral do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

DANIEL, Thomas M. The history of tuberculosis. **Respiratory Medicine**, v. 100, p. 1862-1870, 09 ago. 2006. Disponível em: <[http://www.resmedjournal.com/article/S0954-6111\(06\)00401-X/pdf](http://www.resmedjournal.com/article/S0954-6111(06)00401-X/pdf)>. Acesso em: 19 ago. 2017.

DAVIDSON, M. W.; ABRAMOWITZ, M. Optical Microscopy. In: **Encyclopedia of Imaging Science and Technology**, v. 42, p. 1106-1141, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/0471443395.img074>>. Acesso em: 27 jul. 2017.

DRESCH, A.; LACERDA, D. P.; ANTUNES JR., J. A. V. **Design science research: a method for science and technology advancement.** New York: Springer, 2015.

DRESCH, Aline et al. **Design science research: método de pesquisa para avanço da ciência e tecnologia.** Porto Alegre: Bookman, 2015.

EDDINS, Steve. The watershed transform: strategies for image segmentation. **MathWorks**, 2002. Disponível em: <<https://la.mathworks.com/company/newsletters/articles/the-watershed-transform-strategies-for-image-segmentation.html>>. Acesso em: 12 nov. 2017.

FILHO, O. M.; NETO, H. V. (1999). Processamento digital de imagens. **Revista Brasileira de Geofísica**, v. 21, n. 03, 1999. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-261X1998000100035>>. Acesso em: 23 ago. 2017.

FORRELLAD, M. A. et al. Virulence factors of the Mycobacterium tuberculosis complex. **Virulence**, v. 4, n. 1, p. 3-66, 2013.

GARCÍA, G. B. et al. **Learning image processing with OpenCV.** Mumbai: Packt Publishing, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>>. Acesso em: 21 set. 2017.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa.** 4. ed. São Paulo: Atlas, 2002.

GOMIDE, J. V. B. **Imagem digital aplicada: uma abordagem para estudantes e profissionais**. 1. ed. São Paulo: Campus/Elsevier, 2014.

GONZALEZ, Rafael C; WOODS, Richard C. Tradução de Cristina Yamagami e Leonardo Piamonte. **Processamento digital de imagens**. 3. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2010.

GONZALEZ, Rafael; WOODS, Richard C. **Digital image processing**. 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1049/ep.1978.0474>>. Acesso em: 14 set. 2017.

GOYAL, A. et al. iMedPub Journals Automatic Detection of Mycobacterium tuberculosis in Stained Sputum and Urine Smear Images Abstract. **iMedPub Journals on Archives of Clinical Microbiology**, v. 6, n. 3-5, p. 1-4, 2015. Disponível em: <<http://www.acmicrob.com>>. Acesso em: 17 ago 2017.

HABAHY, M. F. et al. Tratamento da Tuberculose. **J Bras Pneumol.**, v. 43, n. 5, p. 472-486, 2017.

HLAVAC, V. Fundamentals of Image Processing. **Optical and Digital Image Processing: Fundamentals and Applications**. p. 71-96, 29 abr. 2011. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9783527635245.ch4>>. Acesso em: 23 out. 2017.

JUNG, Carlos Fernando. **Metodologia para pesquisa & desenvolvimento**. Rio de Janeiro: Axcel Books, 2004.

KHUTLANG, R. et al. Automated detection of tuberculosis in Ziehl-Neelsen-stained sputum smears using two one-class classifiers. **Journal of Microscopy**, v. 237, n. 1, p. 96-102, 10 dez. 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.2009.03308.x>>. Acesso em: 10 ago 2017.

KIND, R. (1997). Image Processing Techniques - Ph.D. Thesis, 1-56. Disponível em: <<http://www.ncsa.illinois.edu/People/kindr/phd/index.pdf>>. Acesso em: 27 set. 2017.

LACERDA, D. P. et al. Design science research: a research method to production engineering. **Gestão & Produção**, v. 20, p. 741-761, 2013.

LOGAN, N. A. **Bacterial systematics**. Blackwell Scientific Publications. London: Glasgow Caledonian University, 1994.

MARCH, S. T.; SMITH, G. F. Design and natural science research on information technology. **Decision support systems**, Elsevier, v. 15, n. 4, p. 251-266, 1995.

MARQUES FILHO, Ogê; VIEIRA NETO, Hugo. **Processamento Digital de Imagens**. Rio de Janeiro: Brasport, 1999.

MASTERS, B. R. History of the Optical Microscope in Cell Biology and Medicine. **Encyclopedia of Life Sciences**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 15 dez. 2008. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/9780470015902.a0003082>>. Acesso em: 23 nov. 2017.

OPENCV. **OpenCV.org**, 2018. Disponível em: <<https://opencv.org/>>. Acesso em: 12 abr. 2018.

OSMAN, M. K.; MASHOR, M. Y.; JAAFAR, H. (2012). Detection of tuberculosis bacilli in tissue slide images using HMLP network trained by Extreme Learning Machine. **Elektronika Ir Elektrotechnika**, Kaunas, v. 120, n. 4, p. 69-74, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.5755/j01.eee.120.4.1456>>. Acesso em: 26 set. 2017.

PANDORE - Une bibliothèque d'opérateurs de traitement d'images. **Panthéon Project**, 21 fev. 2017. Disponível em: <<https://clouard.users.greyc.fr/Pandore/>>. Acesso em: 23 ago. 2017.

PEDRINI, Hélio; SCHWARTZ, William Robson. **Análise de imagens digitais: princípios, algoritmos e aplicações**. São Paulo: Thomson Learning, 2008.

PEREIRA, S. M. et al. Vacina BCG contra tuberculose: efeito protetor e políticas de vacinação. **Rev. Saúde Pública**, v. 41, n. supl. 1, p. 59-66, 2007.

PETROU, Maria; PETROU, Costas. **Image processing: The fundamentals**, Second Edition. John Wiley & Sons, 2010.

PIERINI, L. M.; MAXFIELD, F. R. Optical microscopy-based migration assay for human neutrophils. **Current protocols in cell biology**, v. 12, p. 12-16, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/0471143030.cb1206s17>>. Acesso em: 25 ago 2017.

RAMOS, T. M. **Potencialidades da microscopia eletrônica (transmissão e varredura) e microscopia confocal como ferramentas para análises de amostras biológicas**. 2013. 49 f. Monografia (Graduação) – Instituto de Biociências, Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

SEIN, M. K. et al. Action Design Research. **MIS Quaterly**, v. 35, n. 1, p. 37-56, 2011.

SULIS, G. et al. Recent developments in the diagnosis and management of tuberculosis. **NPJ Primary Care Respiratory Medicine**, v. 26, 03 nov. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27808163>>. Acesso em: 17 set. 2017.

TB prevention. **Centers for Disease Control and Prevention**, 15 mar. 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/tb/topic/basics/tbprevention.htm>>. Acesso em: 19 set 2017.

VAISHNAVI, V.; KUECHLER, B. Design science research in information systems: theory and practice. **Ais**, 45, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5653-8>>. Acesso em: 27 jul. 2017.

VAN AKEN, J. E. Management research based on the paradigm of the design sciences: the quest for field- tested and grounded technological rules. **Journal of Management Studies**, v. 41, n. 2, p. 219-246, 10 fev. 2004. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-6486.2004.00430.x>>. Acesso em: 18 set. 2017.

VENABLE, J. R. The role of theory and theorising in design science research. **Desrist**, v. 24-25, p. 1-18, 2006.

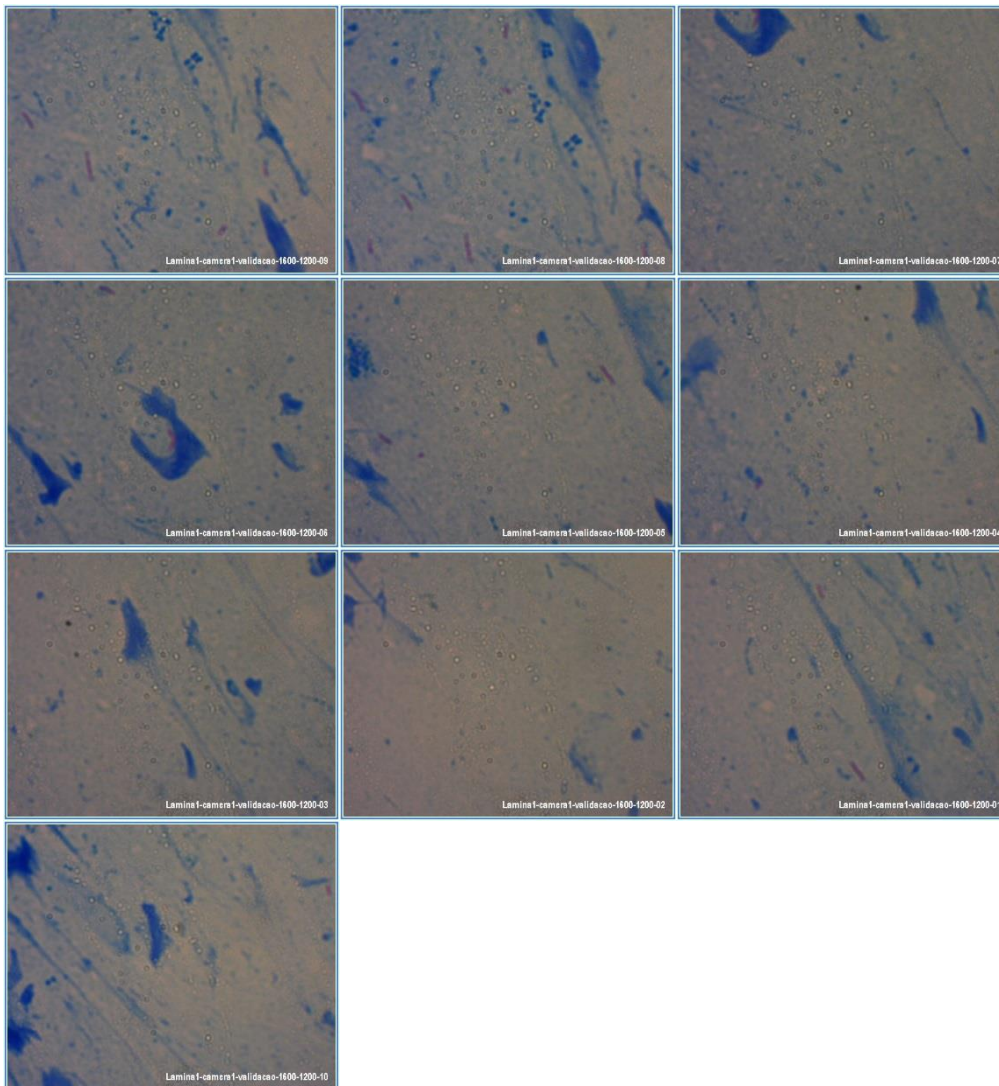
WHAT. 2004. Disponível em: <<http://cimj.eu/reference/index.html>>. Acesso em: 15 out. 2017.

WHO. Global tuberculosis report 2016. Cdc 2016, **Global TB Report**, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/ISBN9789241565394>>. Acesso em: 18 ago. 2017.

WHO. World health organization. **Global tuberculosis report 2015**, 20. ed., 2015.

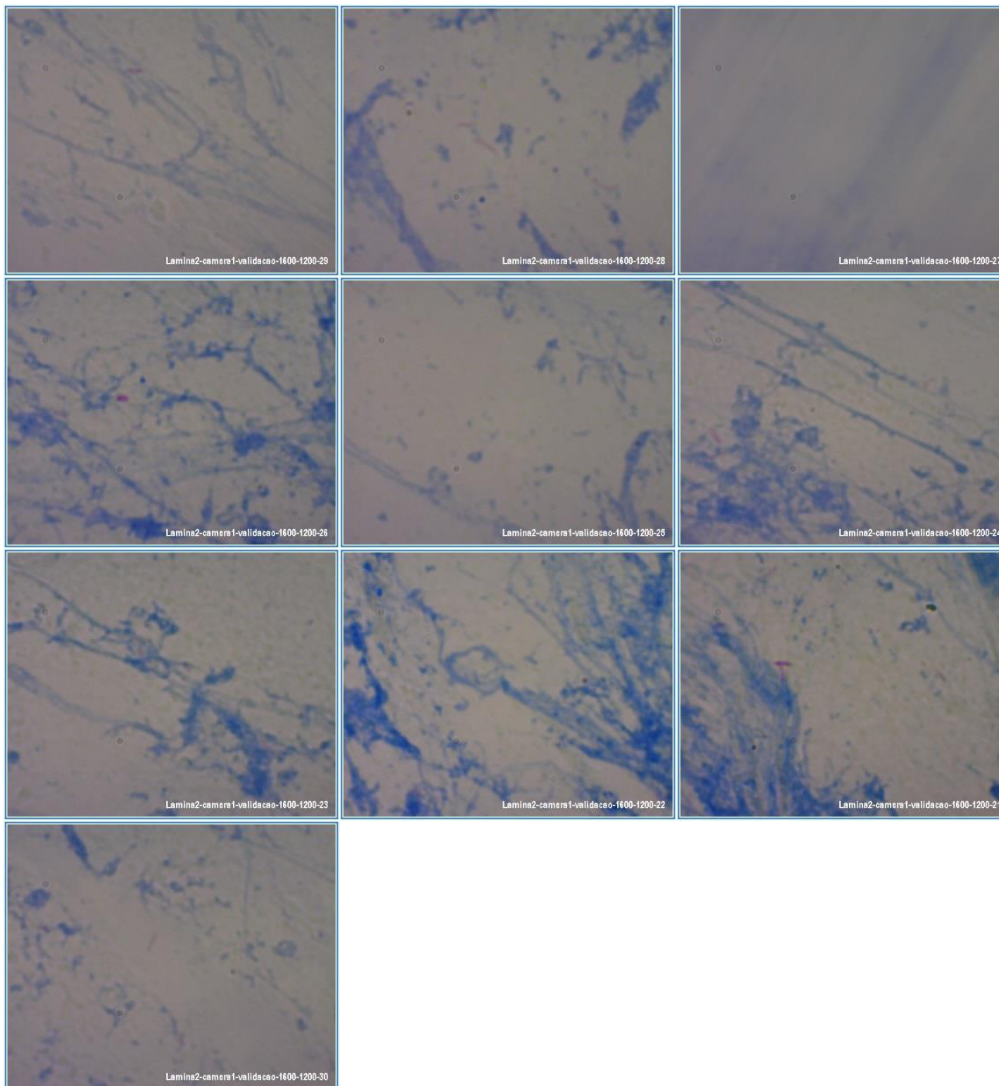
YOGAMANGALAM, R.; KARTHIKEYAN, B. Segmentation techniques comparison in image processing. **International Journal of Engineering and Technology (IJET)**, v. 5, n. 1, p. 307-313, 2013.

APÊNDICE A – Lista de 10 imagens da Camera1-Lamina1

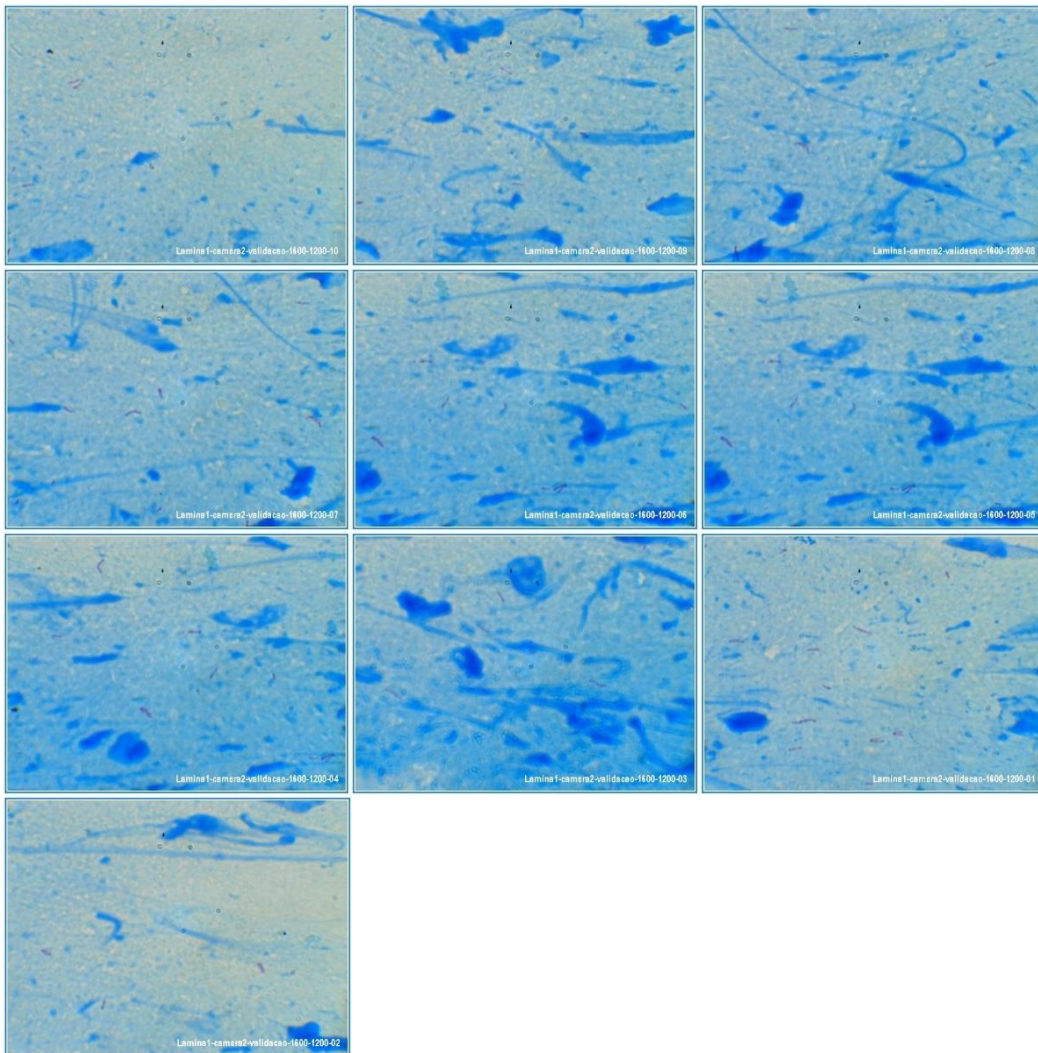


Fonte: elaborado pelo autor.

APÊNDICE B – Lista de 10 imagens da Camera1-Lamina2



Fonte: elaborado pelo autor.

APÊNDICE C – Lista de 10 imagens da Camera2-Lamina1

Fonte: elaborado pelo autor.