

# Desenvolvimento de um Sistema para Contagem Automática de Células Sanguíneas Através de Visão Computacional

Daniel Banke<sup>1</sup>, Mauricio Edgar Stivanello<sup>1</sup>, Leônidas João de Mello Jr.<sup>1</sup>  
Saulo Vargas<sup>1</sup>, Emerson André Fedechen<sup>1</sup>, Antonio R. R. Abatepaulo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC)  
Campus Gaspar – Gaspar, SC – Brasil

<sup>2</sup>Centro Universitário Leonardo da Vinci (UNIASSELVI)  
Blumenau, SC – Brasil

daniel-benke@hotmail.com, mauricio.stivanello@ifsc.edu.br

leonidas.junior@ifsc.edu.br, saulo.vargas@ifsc.edu.br

emerson.fedechen@ifsc.edu.br, antonioabatepaulo@hotmail.com

**Resumo.** *A rapidez e a precisão em análises hematológicas são de fundamental importância em laboratórios no mundo todo. Sistemas automáticos de contagem celular são frequentemente utilizados e tornam-se uma excelente alternativa aos métodos manuais tradicionalmente aplicados. Porém, os equipamentos empregados são normalmente caros. Neste trabalho é descrito o desenvolvimento de um sistema de computador para contagem automática de células em campos microscópicos por meio de visão computacional. Os resultados alcançados comprovam a efetividade do sistema desenvolvido.*

## 1. Introdução

A análise de informações a partir de amostras biológicas, obtidas por técnicas de microscopia de luz, é uma das atividades mais comuns em laboratórios. A obtenção destas informações pode ser bastante dispendiosa, como é o caso da contagem de células ou colônias, realizada manualmente por especialista. No caso específico de amostras de sangue, contadores automatizados podem ser utilizados na contagem de células sanguíneas, oferecendo segurança e rapidez na análise hematológica. No entanto, algumas amostras analisadas pelos contadores automatizados de células ainda requerem avaliação por um especialista humano através da distensão de sangue periférico para permitir a observação de anormalidades morfológicas e outras alterações [Failace and Pranke 2004]. Além disso, os equipamentos empregados são caros, o que impede ou dificulta a sua utilização em pequenos laboratórios ou mesmo em ambientes de ensino.

Observa-se, ainda, que em função da automatização por contadores de células (análise quantitativa), a utilização da microscopia de luz somente é prática para casos selecionados (análise qualitativa). Apesar da alta confiabilidade dos contadores automatizados, a observação microscópica cuidadosa dos hemogramas não concordantes pelo aparelho diminui a possibilidade de qualquer alteração presente não ser observada e indicada no hemograma [Failace and Pranke 2004]. A disponibilidade de um sistema que realize a contagem diretamente da lâmina amostrada para o exame qualitativo poderá representar uma inovação para a área, e constitui uma primeira etapa para a resolução de problemas que permeiam a própria análise qualitativa.

A visão computacional, por sua vez, vem sendo aplicada com sucesso em diferentes áreas, de modo que informações sejam extraídas de imagens digitais de forma automatizada. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver um sistema de computador que realize contagem automática de células sanguíneas em lâminas contendo esfregaço de sangue.

Na seção 2 são apresentados trabalhos relacionados com análise automática de amostras biológicas por computador. Em seguida, na seção 3, são apresentados alguns conceitos básicos relacionados ao processamento de imagens digitais e visão computacional. Na seção 4 é descrita a metodologia proposta empregada no desenvolvimento do sistema descrito. Na seção 5 são discutidos os resultados experimentais obtidos. Finalmente, na seção 6 são apresentadas as conclusões e perspectivas para trabalhos futuros.

## **2. Sistemas de Análise Automatizada de Amostras Biológicas**

Sistemas de análise automática de imagens estão sendo cada vez mais utilizados em aplicações que variam de robótica até monitoramento automático de tráfego [Denman et al. 2006, Stivanello and Gomes 2006, Siegart and Nourbakhsh 2004]. No caso específico de procedimentos laboratoriais, também já encontram-se disponíveis sistemas que dão suporte aos procedimentos de análise.

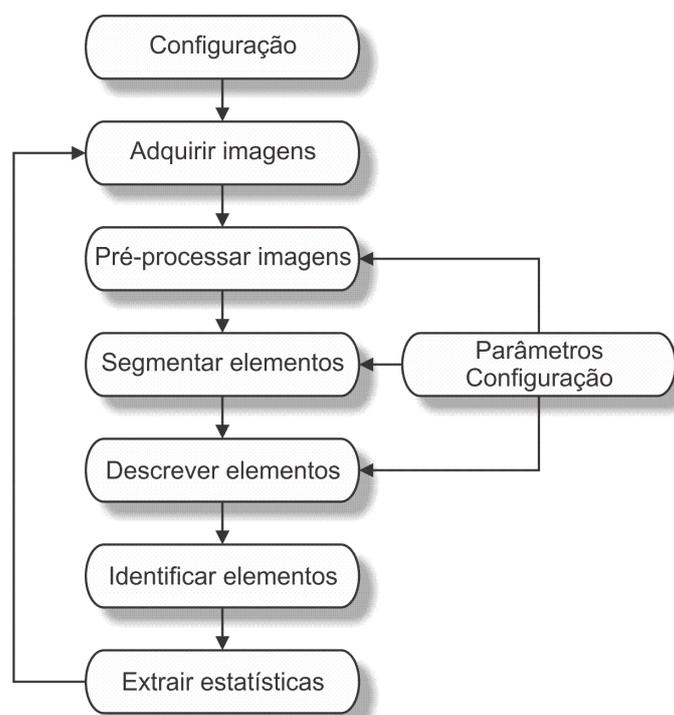
O Lohitha é um exemplo de software baseado em processamento de imagens e visão computacional aplicado a contagem celular [G. Priyankara and Silva 2012]. O sistema é empregado ao reconhecimento e análise sanguínea e a geração de relatórios de hemogramas. A entrada do sistema é uma imagem gerada por um microscópio específico e previamente preparada por um profissional treinado. A contagem pode ser feita para diferentes tipos de células de maneira automática ou interativa (com regiões selecionadas). Criado como alternativa mais econômica quando comparado a hardwares específicos, este sistema torna-se viável a localidades com restrições de recursos sem a substituição do especialista. O software oferece também agilidade na contagem celular, diminuindo o stress dos técnicos laboratoriais.

Outro sistema relevante que permite realizar análises diversas em imagens é o ImageJ [Collins 2007]. Neste sistema de processamento de imagens é possível extrair diferentes estatísticas através da aplicação sequencial de operações que se encontram disponíveis. Este sistema não é desenvolvido para realizar a análise de um tipo específico de imagem. Desta forma, a responsabilidade da escolha correta da sequência de processamento fica a cargo do usuário.

## **3. Processamento de Imagens e Visão Computacional**

Processamento de imagens digitais é a área do conhecimento que envolve técnicas computacionais que visam tratar os dados obtidos por sensores como câmeras, por exemplo. Estas técnicas podem ser utilizadas tanto para a melhoria de informação visual para a interpretação humana como para o processamento de dados de cenas envolvendo percepção automática através de máquinas. Por sua vez, a grande demanda por sistemas que realizam percepção automática através de máquinas tem impulsionado o grande desenvolvimento da visão computacional, que por sua vez emprega tanto técnicas de processamento de imagens digitais como técnicas de inteligência artificial.

Um sistema de visão computacional pode ser desenvolvido considerando uma vasta gama de hardware e software, envolvendo um grande número de técnicas. Entretanto, podemos identificar passos fundamentais que normalmente se farão presentes. Na figura 1 é apresentado um fluxograma que descreve o fluxo de processamento normalmente utilizado.



**Figura 1. Fluxo Clássico de Processamento**

No fluxo apresentado podemos identificar as seguintes etapas:

- **Configuração:** nesta etapa são realizadas definições de parâmetros iniciais que podem variar em função do equipamento utilizado, características da cena observada, etc. Diferentes tipos de calibração podem ser realizadas neste momento.
- **Aquisição:** é neste momento que ocorre a captura e a digitalização da imagem. A captura se dá por meio de um sensor eletromagnético e um sinal (raio X, ultravioleta, luz visível ou infravermelho). A digitalização é a conversão da saída elétrica do sensoriamento físico para a forma digital [Gonzalez and Woods 2010]. A quantidade e a qualidade dos dados obtidos dependerão do tipo e qualidade do sistema de aquisição. As imagens resultantes podem variar entre imagens monocromáticas ou coloridas, bidimensionais (2D) ou tridimensionais (nuvens de pontos 3D) e pelo número de bits que definirá a sua resolução.
- **Pré-processamento:** esta etapa é realizada com o objetivo de melhorar a imagem original, aumentando as chances de sucesso dos processos seguintes. Esta fase engloba a aplicação de filtros para correções, normalizações, tratamento de ruídos, realce de contrastes, isolamento de regiões, etc. Deste modo são criados

subsídios para a percepção automatizada.

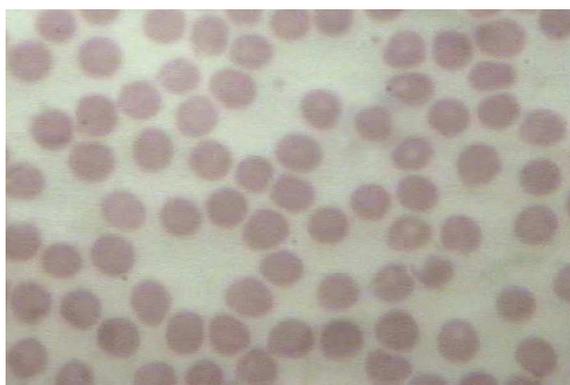
- **Segmentação:** nesta etapa procura-se isolar os objetos de interesse do resto da cena, reduzindo desta forma o grande volume de dados obtidos na etapa anterior. Esta etapa pode favorecer substancialmente à aplicação de técnicas de reconhecimento, no entanto algoritmos de segmentação mal aplicados podem causar problemas às etapas subsequentes [Stefania 2003]. A saída desta etapa é normalmente uma imagem binária, onde os objetos de interesse estão separados do resto da imagem.
- **Descrição:** considerada como o problema central de grande parte das aplicações de visão computacional, é onde se procura formar a descrição correta para imagens ou sequência de imagens [Gribkov et al. 2008]. A representação original de imagens digitais, baseada em amostras pontuais do espaço, nem sempre é adequada para uma análise direta. De modo geral, procura-se simplificar a representação dos objetos de interesse detectados na etapa de segmentação. Pode-se, por exemplo, representar um agrupamento de pontos através de sua área, posição central, ou mesmo pontos que fazem parte do contorno. A saída desta etapa é normalmente uma lista de descritores relacionados a cada um dos objetos destacados no momento da segmentação.
- **Identificação:** uma vez que os dados que descrevem cada elemento ou objeto de interesse presente na cena tenham sido calculados pode-se realizar a identificação ou reconhecimento. É muito comum que nesta etapa seja realizada a classificação de cada elemento. Diferentes abordagens podem ser utilizadas, empregando desde métodos estatísticos simples até reconhedores de padrões elaborados como redes neurais artificiais [Loesch and Sari 1996].
- **Extração de estatísticas:** com base nos objetos identificados, nesta etapa são levantadas as informações de interesse para a aplicação. É neste momento que se levanta, por exemplo, quantos objetos do tipo A foram identificados ou ainda se existe ou não um objeto do tipo B.

A presença destas etapas em um sistema pode variar dependendo dos requisitos verificados na aplicação. Na seção seguinte será discutido o método utilizado no desenvolvimento do sistema proposto em cada uma destas etapas.

#### **4. Metodologia Proposta**

O principal requisito funcional que orientou o desenvolvimento do sistema descrito foi a contagem automática de células em amostras biológicas. Na figura 2 é apresentado um exemplo de imagem de amostra de interesse.

O maior desafio no desenvolvimento de um sistema de visão computacional está na escolha das técnicas de processamento de imagens a serem utilizadas para destacar e extrair a informação desejada [Gonzalez and Woods 2010]. Em função disso, diferentes técnicas foram avaliadas, de modo a se alcançar um fluxo de processamento que realizasse a contagem de células a contento. O fluxo de processamento empregado no sistema



**Figura 2. Exemplo de amostra de interesse - esfregaço de sangue (aumento de 400x, corante Hematoxilina/Eosina)**

desenvolvido, assim como as técnicas selecionadas para cada etapa do processamento, são apresentados na figura 3.

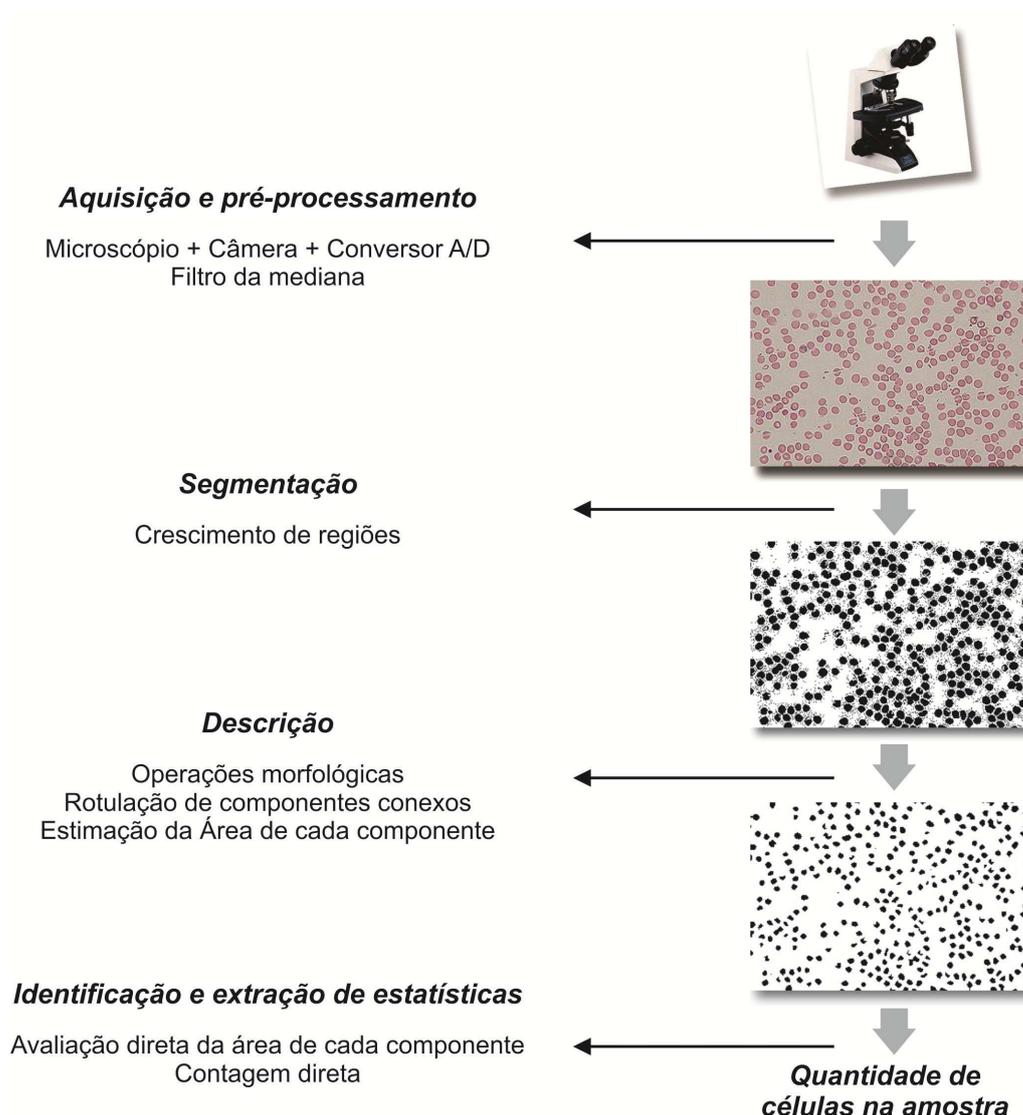
A aquisição das imagens digitais das amostras de interesse foi realizada através de uma câmera analógica acoplada a um microscópio convencional. Para realizar a conversão do sinal original da câmera em imagens digitais foi utilizado um conversor analógico-digital. As imagens obtidas na aquisição se mostraram de boa qualidade, sem a presença significativa de ruído. Quando observado ruído gaussiano, por exemplo, é aplicado um filtro de mediana como uma etapa de pré-processamento.

Das etapas iniciais de aquisição e pré-processamento são obtidas imagens coloridas sem a presença de ruído. Neste momento é necessário separar nas imagens a fase correspondente ao fundo da fase correspondente às células presentes na amostra. Para isso, como uma etapa de segmentação é empregado um algoritmo de inundação que combina as técnicas de detecção de bordas, limiarização e crescimento de região [Gonzalez and Woods 2010]. O algoritmo de inundação mostrou-se mais robusto do que uma limiarização direta, principalmente quando observada diferença de iluminação ao longo das imagens analisadas.

Como saída da etapa de segmentação é obtida uma imagem binária onde as células são destacadas do fundo. Entretanto, em função de ruído ou outros artefatos presentes nas imagens adquiridas pode ser obtido um grande número de pequenos componentes que não representam células e que devem ser eliminados. Para isso, é empregada uma sequência de operações morfológicas de erosão e dilatação, de modo que apenas componentes com tamanho aproximado ao de uma célula sejam mantidos.

Na etapa de descrição cada um dos elementos restantes na imagem são detectados através de um algoritmo de rotulação de componentes conexos. Neste momento é gerada uma lista que contém a posição de cada elemento, além da área calculada com base no número de pontos pertencentes ao mesmo. Finalmente, a identificação e contagem é realizada de forma direta, avaliando-se a área de cada elemento e desconsiderando aqueles com valores fora de uma faixa aceitável.

O sistema descrito foi implementado em linguagem C++, utilizando a biblioteca de processamento de imagens OpenCV [Bradski and Kaebler 2008].



**Figura 3. Fluxo de processamento empregado no sistema**

## 5. Resultados Experimentais

Para validar o protótipo desenvolvido foi realizada uma bateria de testes utilizando uma base de imagens microscópicas obtidas a partir de coleção histológica pessoal para uso didático. Foram amostradas 11 lâminas como esfregaço de sangue (aumento de 400x, corante Hematoxilina/Eosina). As amostras foram avaliadas tanto por um especialista humano quanto pelo sistema automatizado desenvolvido. Os resultados apresentados pela contagem manual e pelo sistema foram comparados e submetidos à análise estatística pelo teste do Chi-Quadrado. Os resultados são apresentados na tabela 1.

**Tabela 1. Número médio de células contadas por campos microscópicos (n=5)**

Contagem Manual	Contagem Automatizada	Média dos Desvios	P
213,4	213,9	3,1 (1,45%)	0,98

Pode-se verificar que não foi encontrada diferença significante entre a análise ma-

nual, realizada pelo especialista humano e o sistema computacional desenvolvido. Com base neste resultado, considera-se que o sistema mostra-se eficiente quando comparado com o trabalho do especialista humano.

Também foi realizada comparação entre contagens de células realizadas através do protótipo desenvolvido e através do sistema de processamento e análise de imagens ImageJ. Os resultados obtidos na análise realizada nos dois sistemas foram condizentes.

## 6. Conclusões e Perspectivas

No presente trabalho foi apresentado o desenvolvimento de um sistema de contagem automática de células em campos microscópicos por meio de visão computacional. O sistema desenvolvido apresentou resultados satisfatórios na contagem de células sanguíneas a partir de imagens microscópicas, podendo ser utilizado como ferramenta de auxílio a análises biológicas.

Como perspectivas futuras pretende-se aumentar a possibilidade de utilização do sistema no sentido de distinguir dentre diferentes tipos de células presentes em uma amostra. Pretende-se disponibilizar esta funcionalidade através da utilização de reconhecedores de padrões com base em forma e também similaridade de cor, possibilitando a identificação de diferentes morfotipos celulares e avanços na tecnologia biomédica.

## Referências

- Bradski, G. and Kaebler, A. (2008). *Learning OpenCV*. O Reilly.
- Collins, T. J. (2007). Imagej for microscopy. *BioTechniques*, 43:25–30.
- Denman, S., Fookes, C., Cook, J., Davoren, C., Mamic, A., Farquharson, G., Chen, D., Chen, B., and Sridharan, S. (2006). Multi-view intelligent vehicle surveillance system. In *IEEE International Conference on Video and Signal Based Surveillance*, page 26.
- Failace, R. and Pranke, P. (2004). Avaliação dos critérios de liberação direta dos resultados de hemogramas através de contadores eletrônicos. *Rev. Bras. Hematologia e Hemoterapia*, 26:159–166.
- G. Priyankara, O. Seneviratne, R. S. W. S. and Silva, R. D. (2012). An extensible computer vision application for blood cell recognition and analysis. Technical report, Dept. of Computer Science and Engineering - University of Moratuwa.
- Gonzalez, R. C. and Woods, R. E. (2010). *Processamento Digital de Imagens*. Pearson.
- Gribkov, I. V., Koltsov, P. P., Kotovich, N. V., Kravchenko, A. A., KoutsaeV, A. S., Osipov, A. S., and Zakharov, A. V. (2008). Comparative study of image segmentation algorithms. In *Proceedings of the 8th conference on Signal, Speech and image processing, SSIP'08*, pages 21–28, Stevens Point, Wisconsin, USA. World Scientific and Engineering Academy and Society (WSEAS).
- Loesch, C. and Sari, S. T. (1996). *Redes neurais artificiais :fundamentos e modelos*. Editora da FURB, Blumenau.
- Siegwart, R. and Nourbakhsh, I. R. (2004). *Introduction to Autonomous Mobile Robots*. MIT Press.
- Stefania, G. (2003). *Retrieving visual concepts in image databases*. Forum Edizioni.

Stivanello, M. E. and Gomes, P. C. R. (2006). Inspeção visual industrial automatizada por análise de forma com descritores de fourier e redes neurais artificiais. In *Anais do XV Seminco*, page 11.