

CMP 197 - Fundamentos de Visão Computacional

Relatório do trabalho 1

Alleff Dymytry Pereira de Deus (00331157), Letícia dos Santos (00275604)

O objetivo desse trabalho é fazer a segmentação e a contagem de núcleos de células em imagens de microscopia. As imagens fornecidas possuem os núcleos das células fluorescendo em vermelho sobre um fundo cinza aproximadamente uniforme. Todas as imagens e tabelas estão em Anexo A e Anexo B, respectivamente. Os códigos das abordagens e implementações podem ser encontrados neste [repositório](#).

1. Questão 1

A sessão apresenta análises iniciais sobre as imagens. Foi aplicado um processo de normalização sobre as imagens originais. Após, foi calculada a diferença entre os canais R e B. O resultado é mostrado na Figura 2.

Claramente, as imagens da Figura 2 possuem uma diferença maior entre o fundo e os núcleos das células do que as imagens originais. Logo, as imagens em cinza com a diferença entre os canais R e B serão usadas para o restante do trabalho.

2. Questão 2

2.a.

Idealmente, o histograma de uma imagem com fundo e vários elementos da mesma cor seria composto da sobreposição de duas distribuições normais, uma centrada na cor do fundo e outra centrada na cor dos elementos a serem identificados.

Os histogramas das imagens em cinza resultantes da questão anterior estão em Figura 3. É possível observar que existem muitos pixels próximos ao 0, ou seja, esses pixels possuem pouco contraste entre os canais R e B da imagem original. Logo, eles pertencem ao fundo e se aproximam da distribuição normal do fundo citada anteriormente.

Pode ser observado outro acúmulo ocorrências de pixels com alto contraste no outro extremo do histograma. Então, esses pixels pertencem aos núcleos das células que estão sendo estudadas e a distribuição se assemelha a uma normal. É importante notar que a magnitude dessa distribuição é muito menor que o fundo, o que faz sentido porque o fundo possui mais área na imagem.

O limiar ideal seria capaz de separar perfeitamente o fundo e os núcleos, ou seja, separar as normais.

Considerando o que já foi discutido, a estratégia desenvolvida para definir um limiar automático foi:

- Calcular a média dos valores dos pixels das imagens em cinza. Esse valor será chamado de primeiro limiar.
- Usar a média como threshold para uma nova imagem.
- Calcular novamente a média sobre a imagem nova. Esse é o limiar automático.
- Finalmente, utilizar a nova média como threshold para o método proposto por nós.

O resultado pode ser observado em Figura 4. Os limiares estão representados na Figura 3. Observando os histogramas, o limiar automático apresentou um resultado satisfatório para Figura 3(a) e Figura 3(d). Entretanto, em Figura 3(b) e Figura 3(c) o limiar ficou com um valor muito alto e, consequentemente, muitos pixels com contraste significativo com o fundo foram ignorados.

As imagens resultantes apresentadas na Figura 4 corroboram com os histogramas e mostram que poucos núcleos restaram após o limiar automático ser aplicado nas imagens composite_02 e composite_03.

2.b.

O resultado da técnica de Otsu está na Figura 5. É visível que o resultado foi melhor quando comparado a Figura 4, resultado do limiar automático proposto por nós.

Comparando especificamente Figura 4(c) e Figura 5(c), a técnica de Otsu resultou em vários núcleos identificados enquanto o limiar automático eliminou praticamente todos os núcleos.

2.c.

A técnica de Ostu foi escolhida, pois obteve um resultado mais uniforme, ou seja, conseguiu extrair os núcleos de todas as imagens. Também foi considerado que a técnica detectou mais núcleos quando as imagens resultantes são avaliadas visualmente.

As estatísticas sobre as imagens resultantes da aplicação da técnica de Ostu estão na Tabela 1. Analisando visualmente as imagens da Figura 5, os elementos presentes nas imagens não são numerosos como a estimativa extraída.

Então, o ruído presente nas imagens originais pode ter sido interpretado como componentes. O fato do alto desvio padrão, que é maior que o tamanho médio dos componentes em todas as imagens, colabora com essa hipótese. Ou seja, existem componentes de poucos pixels, que provavelmente são ruídos, e componentes grandes que são os núcleos das células.

3. Questão 3

Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos utilizando a abordagem de 'Watershed'. Primeiramente, foram carregadas as imagens da seções anteriores e aplicado a binarização de Otsu, após foi verificado qual o módulo do Gradiente seria utilizado. Os métodos testados foram o filtro de Sobel, filtro Laplaciano e filtro de Canny.

A escolha do filtro para os próximos passos a serem desenvolvidos levou em consideração a quantidade de informação extraída das imagens originais. Portanto, utilizando a Figura 11(a) como referência, é possível notar que existem ao menos 12 objetos de interesse que serão utilizados para comparação com as imagens filtradas.

Realizando uma análise visual pode-se notar que o filtro que obteve um resultado satisfatório para as próximas etapas foi o filtro de Sobel (Figura 11(c)). Assim, é possível notar que o filtro Laplaciano (Figura 11(b)) obteve o pior resultado, já que a quantidade de objetos de interesse é inferior ao valor de referência. Contudo, o filtro de Canny (Figura 11(d)) apresenta um comportamento interessante, no qual é possível obter uma quantidade maior de objetos do que o Laplaciano, mas somente as bordas dos objetos são preservadas.

Após a filtragem utilizando Sobel, foi realizado o fechamento e erosão morfológica com um *kernel* de 3×3 , o

resultados destas operações pode ser notado na Figura 6 e foram utilizados como marcadores guias para realizar as *Watersheds*.

Para a obtenção das *Watersheds* duas abordagens foram realizadas, utilizando as ferramentas da biblioteca OpenCV e utilizando as ferramentas da biblioteca Scikit. Ambas as técnicas necessitam da preparação das imagens utilizadas e dos marcadores para facilitar a obtenção das *Watersheds*, esta preparação foi realizada através da erosão e dilatação dos objetos nas imagens, diminuindo a quantidade de ruídos das imagens que poderiam ser consideradas como objetos de interesse. Para facilitar a visualização das *Watersheds* obtidas, as mesmas estão marcadas com o número que identifica o objeto encontrado. Assim, este resultado pode ser notado na Figura 7.

Com os resultados obtidos em todas as imagens, foi possível realizar a construção de uma tabela para a comparação entre as abordagens realizadas e a verificação manual das imagens. Os valores obtidos a partir das *Watersheds* pode ser visto na Tabela 2, no qual a coluna "Visualmente" é a contagem manual dos objetos de interesse na imagem.

Os resultados da abordagem utilizando a biblioteca SciKit, obteve um resultado melhor em comparação com o a biblioteca OpenCV. Contudo, parte da melhora de resultado em comparação, está atrelado ao fato de alguns objetos de interesse acabarem ficando com ruídos e serem considerados objetos a parte, assim, fazendo com que a descoberta utilizando *Watersheds* aumente.

Juntamente com a quantidade de objetos de interesse extraídos das imagens, foi possível realizar uma análise em relação as medidas de área, desvio padrão e a média destes valores. As medidas de cada objeto podem ser vistas na Tabela 3, onde a coluna "Label" se refere ao nome do objeto, a área em pixels e o desvio padrão destes pixels. Os resultados das demais imagens utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho podem ser vistas no Apêndice B.

Comparando os resultados obtidos com as *Watersheds* e a binarização direta da imagem, é possível notar que utilizar somente a binarização para a obtenção dos objetos nas imagens pode possuir ruídos. Estes ruídos nem sempre são considerados utilizando a abordagem das *Watersheds*, devido ao pré-processamento realizado nas imagens, no qual estes ruídos podem ser filtrados por completo.

4. Questão 4

Dentre as etapas necessárias para a extração dos objetos de interesse utilizando *Watersheds*, foi possível notar a necessidade de uma imagem com a menor quantidade possível de ruídos. Assim, pontos estratégicos que podem influenciar na abordagem é a realização de filtragens, tanto de forma prévia quanto após a aplicação da filtragem de Sobel.

Para melhorar os resultados obtidos, foram realizadas modificações nos parâmetros utilizados para as filtragens e iterações das operações morfológicas. Um destes parâmetros que foram modificados foi "min_distance" na função "peak_local_max()", a quantidade de objetos resultantes pode ser notado na Tabela 7.

Realizando uma análise nos resultados da Tabela 7 é possível notar que quanto mais a distância é aumentada, maior é o erro da quantidade de objetos que desejam ser extraídos da imagem. Assim, o valor que melhor representa o ideal é "min_dist" igual à 20, pois é possível obter um acerto de 75% em relação aos valores de obtenção manual.

Visando melhorar os resultados obtidos durante o desenvolvimento da abordagem utilizando *Watersheds*, foi pensado em realizar a fusão das imagens filtradas. No processo de fusão das imagens foram realizadas duas formas diferentes, sendo elas: (1) Imagem filtrada com Sobel em adição com Imagem filtrada com Canny (Figura 15(a)) e (2) Imagem filtrada com Sobel em adição com Imagem filtrada com Laplaciano (Figura 15(b)). Contudo, foi possível notar que a junção de ambas as imagens filtradas não afetaram positivamente a obtenção

das *Watersheds*, obtendo resultados piores do que utilizando somente a imagem filtrada com Sobel.

Anexos

A. Imagens

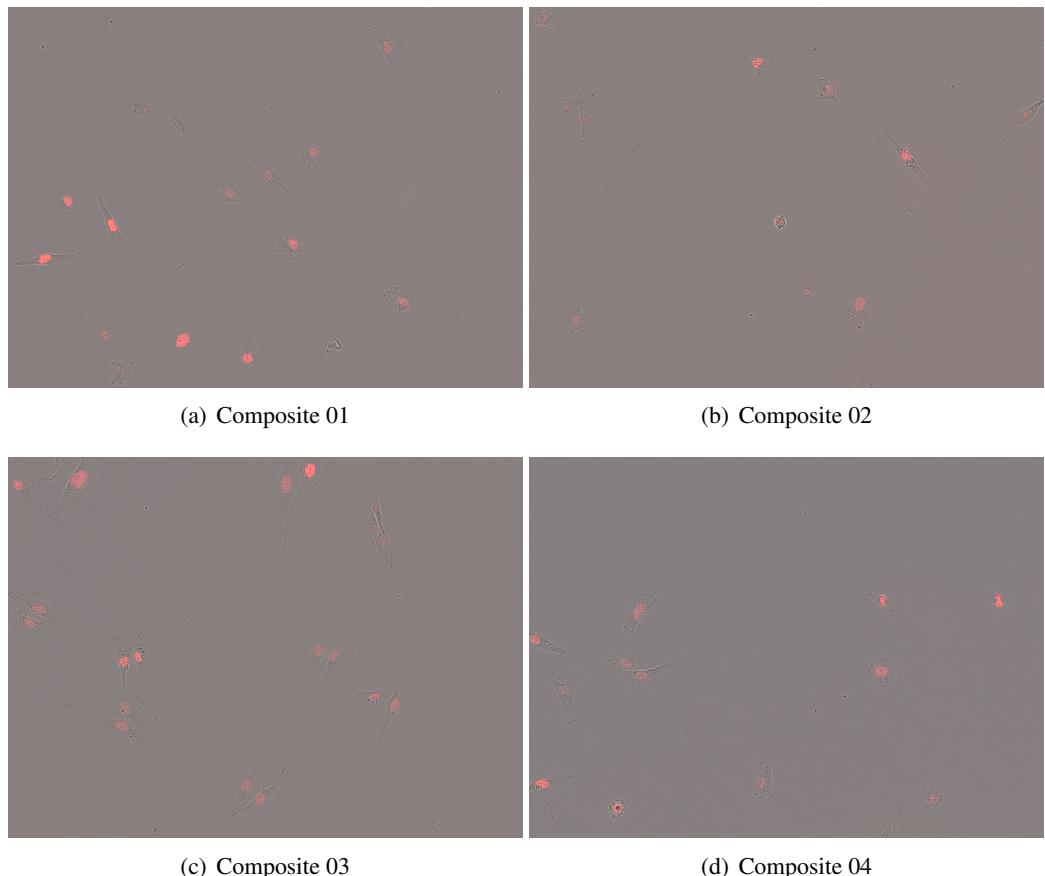
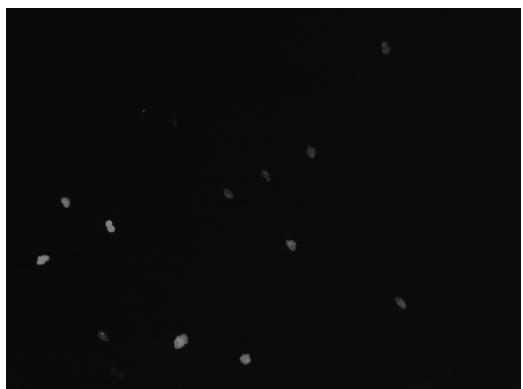
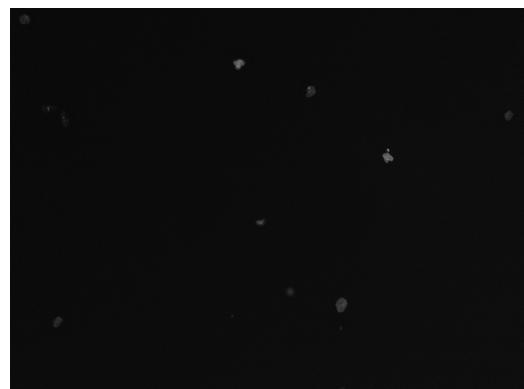


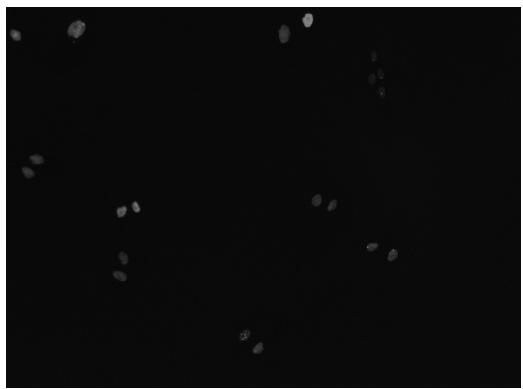
Figura 1: Imagens Originais - Composite



(a) composite_01



(b) composite_02



(c) composite_03



(d) composite_04

Figura 2: Imagens resultantes da questão 1

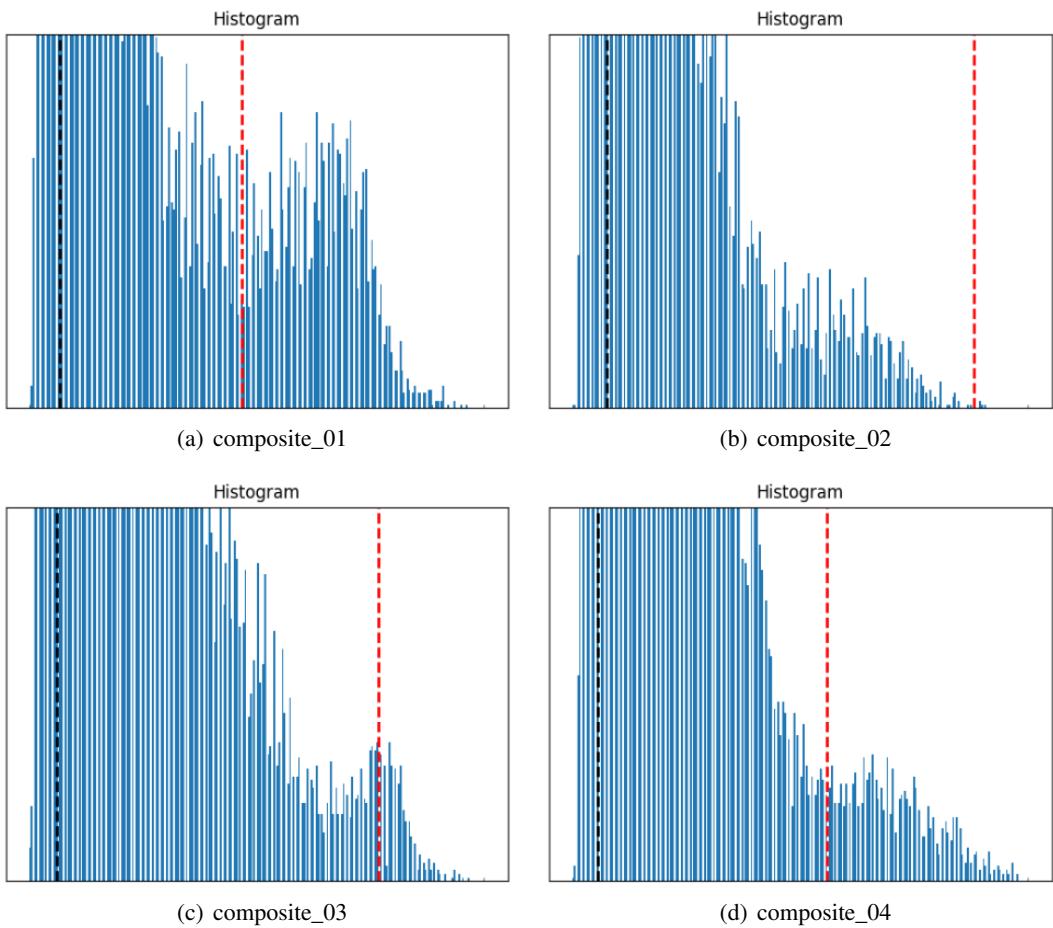


Figura 3: questão 2(a) - Histogramas com eixo y limitado em 100 ocorrências. Primeiro limiar na linha pontilhada preta e limiar automático na linha vermelha.

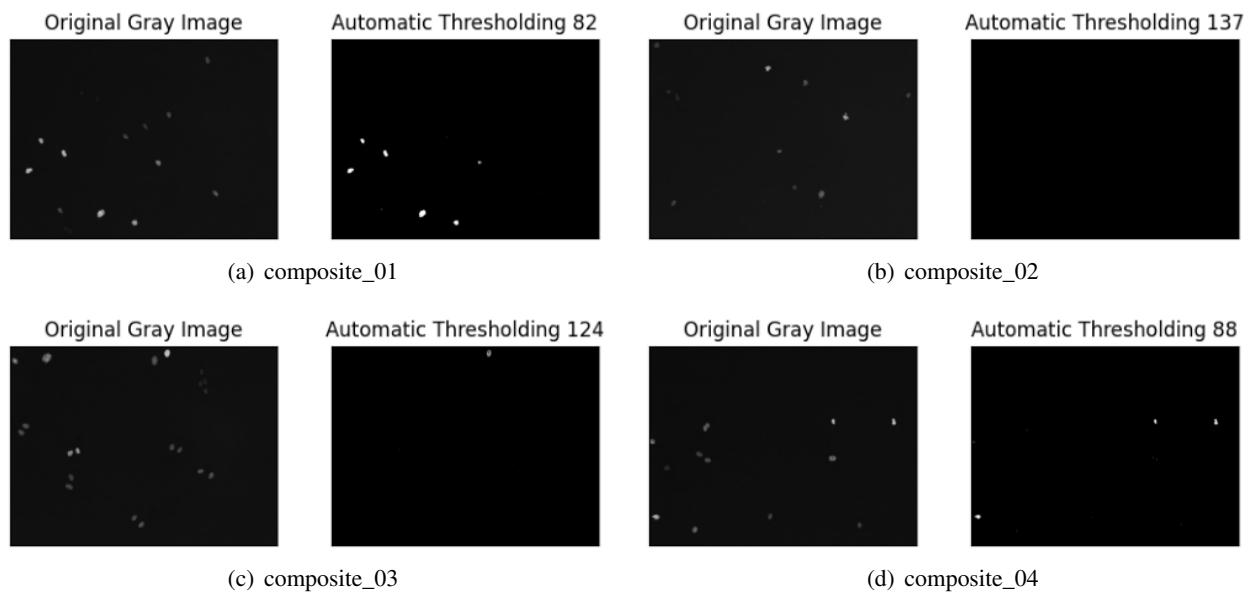


Figura 4: Imagens resultantes da questão 2(a)

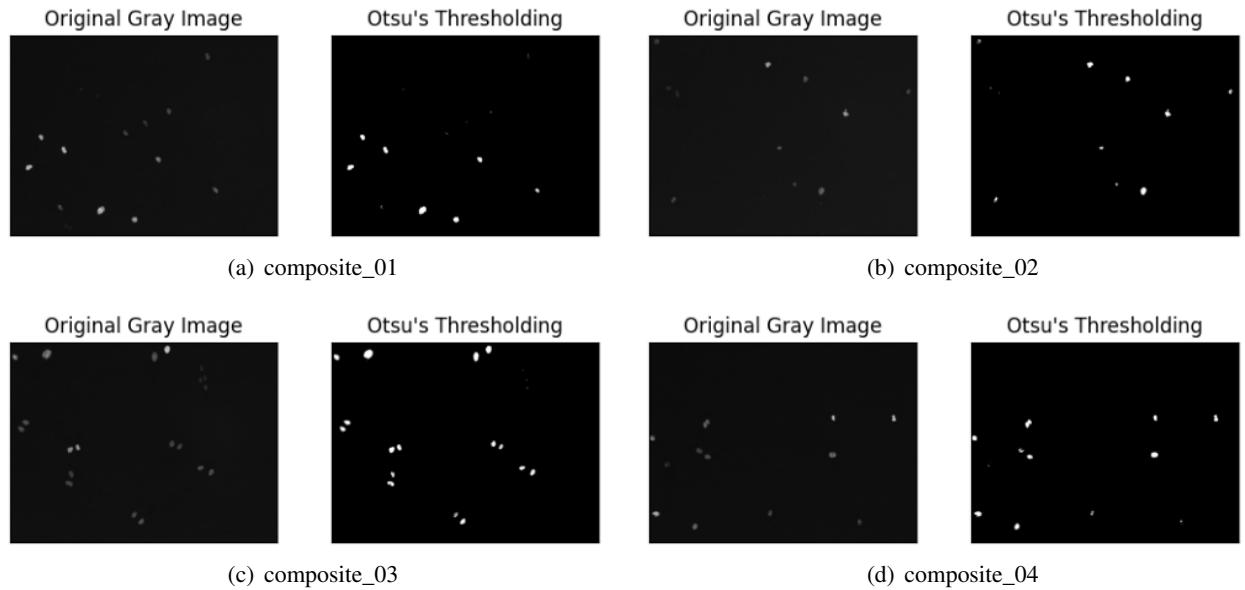


Figura 5: Imagens resultantes da questão 2(b)

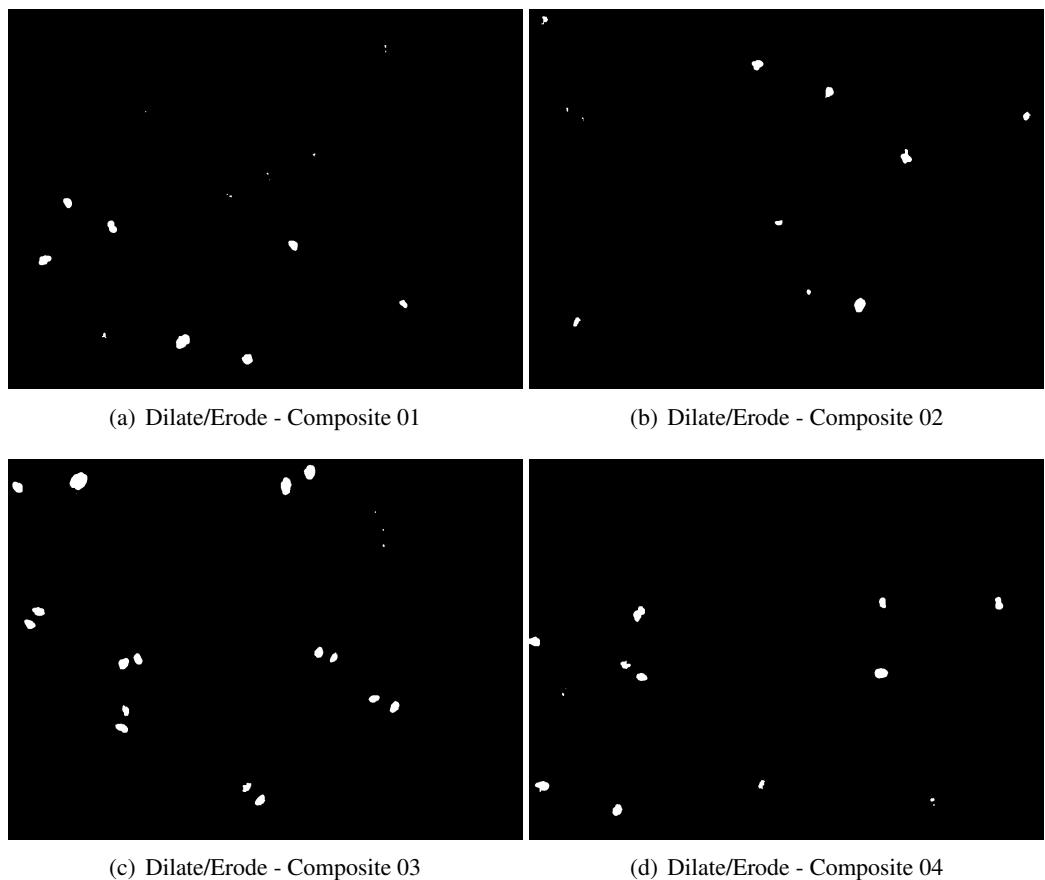
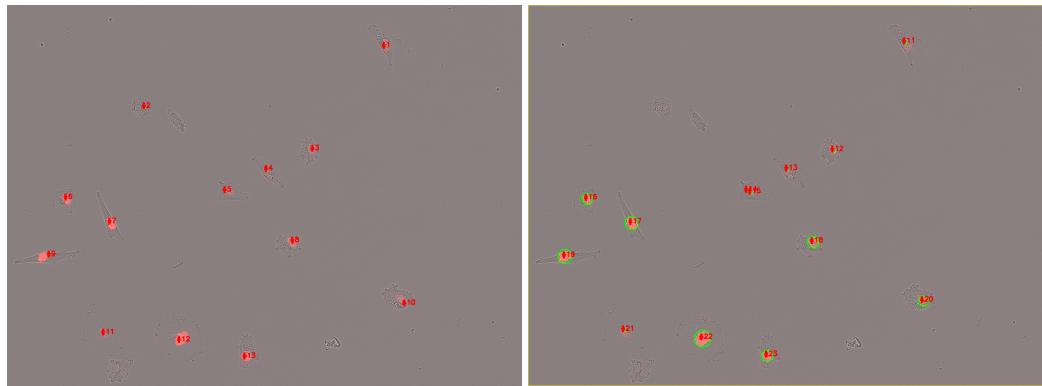


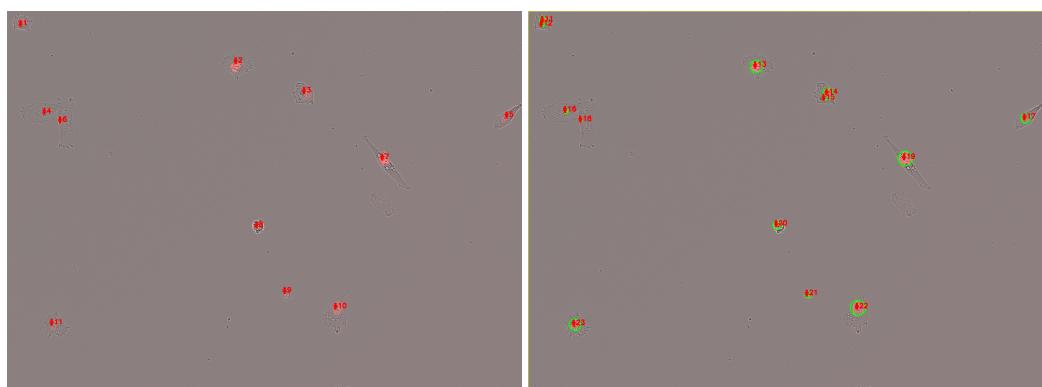
Figura 6: Imagens processo Dilate e Erode da questão 3.



(a) *Watershed SciKit*

(b) *Watershed OpenCV*

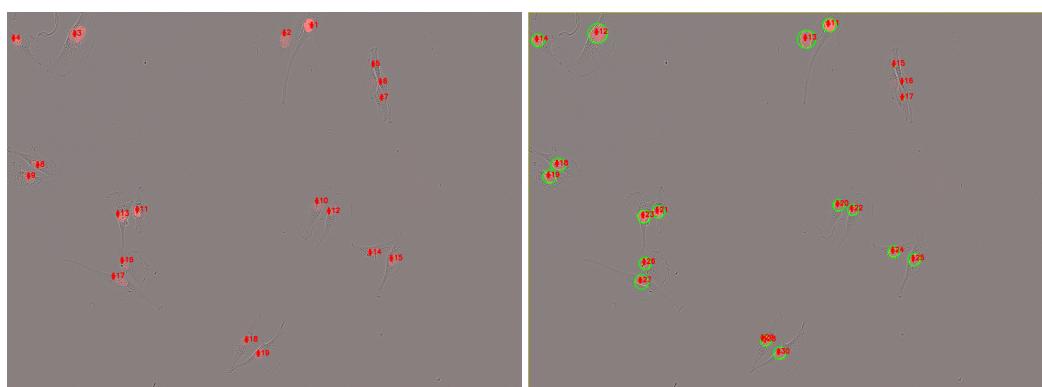
Figura 7: *Watersheds* obtidas da questão 3 - Composite 01



(a) *Watershed SciKit*

(b) *Watershed OpenCV*

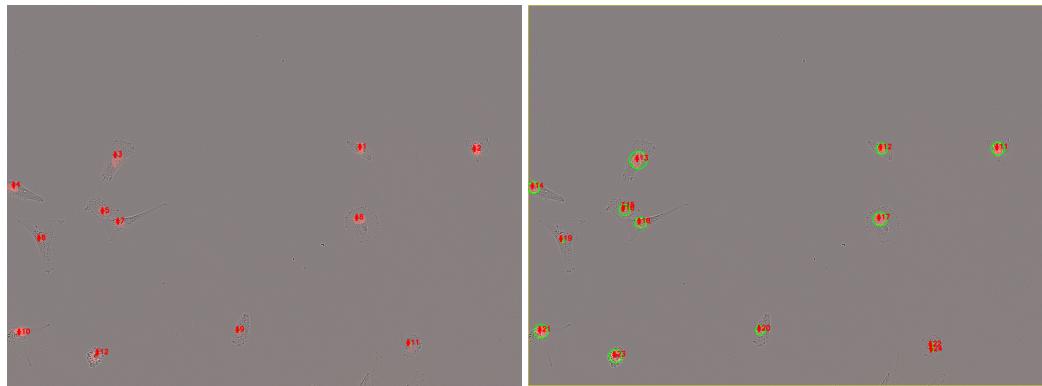
Figura 8: *Watersheds* obtidas da questão 3 - Composite 02



(a) *Watershed SciKit*

(b) *Watershed OpenCV*

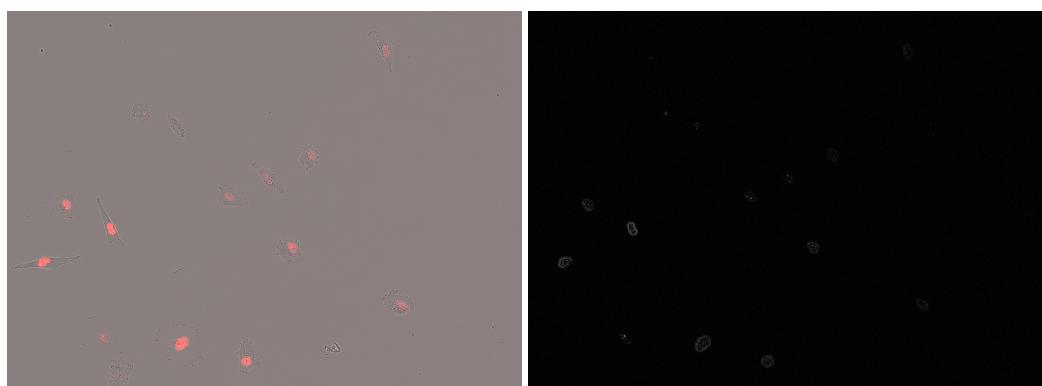
Figura 9: *Watersheds* obtidas da questão 3 - Composite 03



(a) *Watershed SciKit*

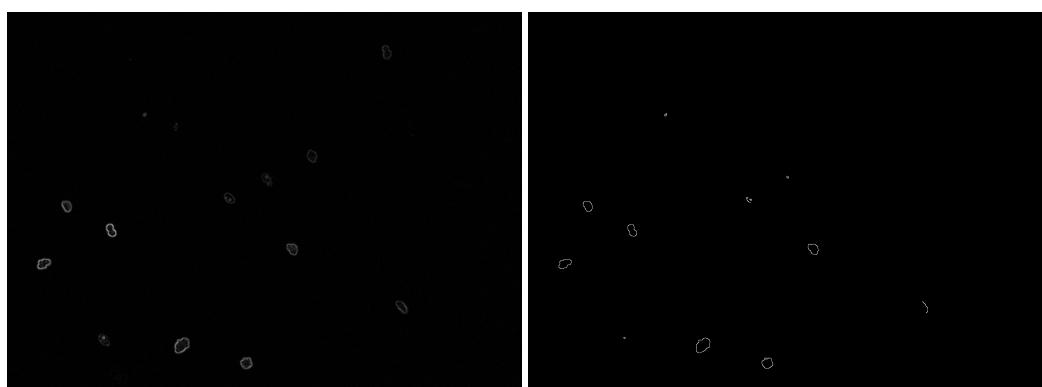
(b) *Watershed OpenCV*

Figura 10: *Watersheds* obtidas da questão 3 - Composite 04



(a) Imagem Original

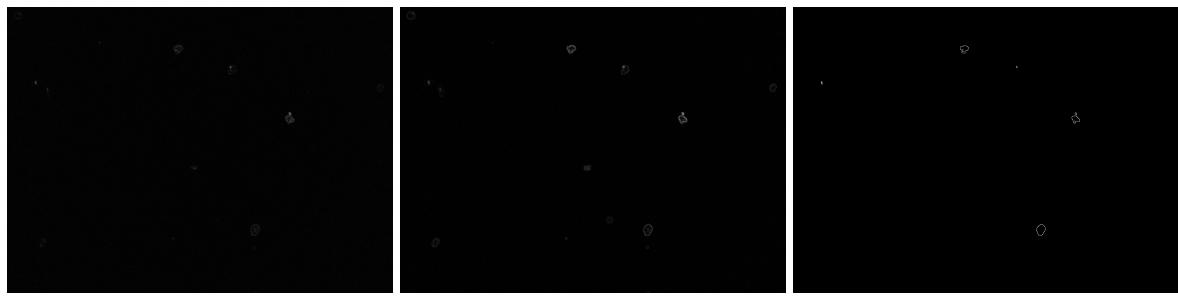
(b) Filtro Laplaciano



(c) Filtro Sobel

(d) Filtro Canny

Figura 11: Imagens filtradas da questão 3 - Composite 01

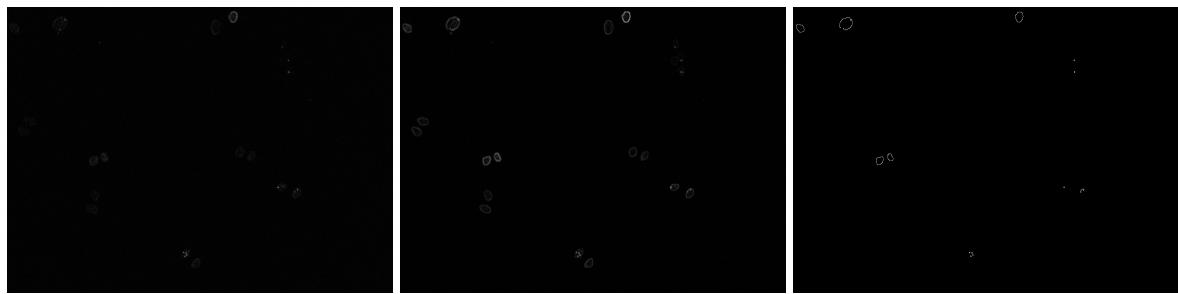


(a) Filtro Laplaciano

(b) Filtro Sobel

(c) Filtro Canny

Figura 12: Imagens filtradas da questão 3 - Composite 02

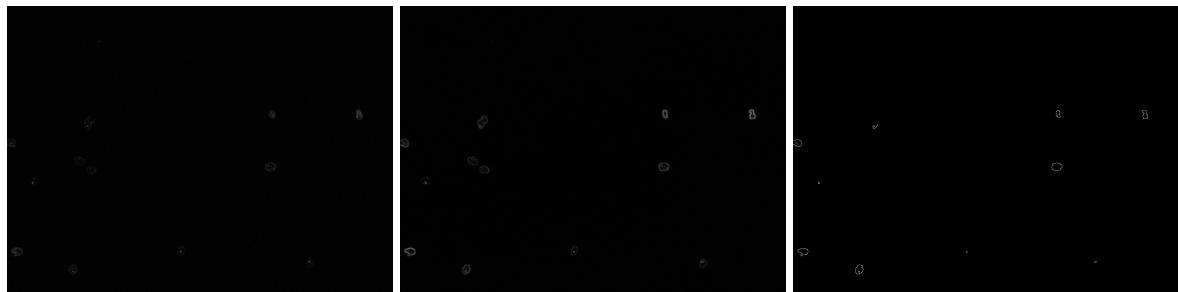


(a) Filtro Laplaciano

(b) Filtro Sobel

(c) Filtro Canny

Figura 13: Imagens filtradas da questão 3 - Composite 03

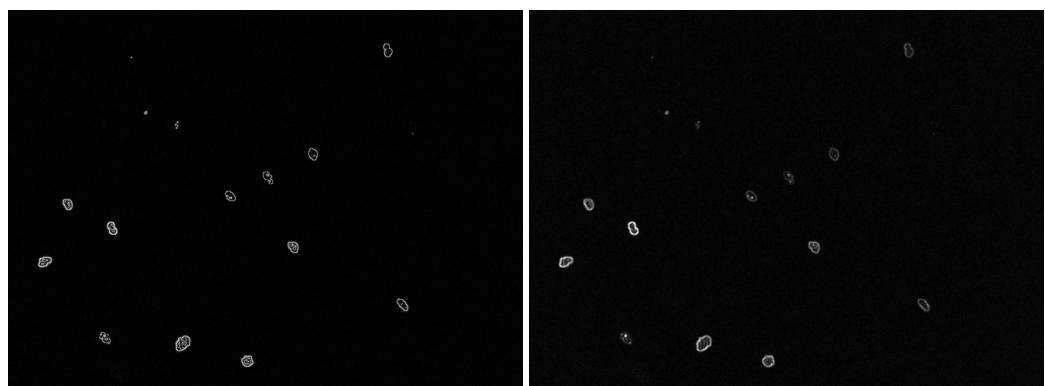


(a) Filtro Laplaciano

(b) Filtro Sobel

(c) Filtro Canny

Figura 14: Imagens filtradas da questão 3 - Composite 04



(a) Sobel+Canny

(b) Sobel+Laplacian

Figura 15: Watersheds obtidas da questão 4 - Composite 01

B. Tabelas

| Imagen | Estimativa de componentes | Tamanho médio em pixels | Desvio padrão |
|--------------|---------------------------|-------------------------|---------------|
| Composite 01 | 39 | 116.36 | 252.17 |
| Composite 02 | 48 | 77.46 | 186.28 |
| Composite 03 | 58 | 176.40 | 330.29 |
| Composite 04 | 23 | 241.43 | 294.87 |

Tabela 1: Estatísticas da técnica de Ostu da questão 2(c).

| Imagen | Visualmente | Watershed Opencv | Watershed Scikit |
|--------------|-------------|------------------|------------------|
| Composite 01 | 12 | 13 | 13 |
| Composite 02 | 11 | 13 | 11 |
| Composite 03 | 20 | 20 | 20 |
| Composite 04 | 12 | 14 | 12 |

Tabela 2: Quantidades de núcleos extraídos das imagens da questão 3

| Label | Área | σ^2 |
|------------------|------|---------------------|
| 1 | 72 | 0.18557687223952257 |
| 2 | 7 | 0.4930066485916347 |
| 3 | 28 | 0.47140452079103173 |
| 4 | 20 | 0.4714045207910317 |
| 5 | 28 | 0.4 |
| 6 | 498 | 0.43804630614414564 |
| 7 | 613 | 0.4610654905108352 |
| 8 | 533 | 0.4428427417013302 |
| 9 | 683 | 0.44764031120145564 |
| 10 | 315 | 0.4847540471985433 |
| 11 | 93 | 0.4971218181098234 |
| 12 | 1096 | 0.4484815872162671 |
| 13 | 642 | 0.45182929329832844 |
| μ_{Area} | | 352.53846153846155 |
| μ_{σ^2} | | 0.43793647367645766 |

Tabela 3: Medidas imagem Composite 01 da questão 3

| Label | Área | σ^2 |
|------------------|------|---------------------|
| 1 | 213 | 0.4999084186177268 |
| 2 | 628 | 0.46772703478902383 |
| 3 | 508 | 0.4557926212437482 |
| 4 | 45 | 0.38569460791993504 |
| 5 | 320 | 0.4814524091461301 |
| 6 | 24 | 0.4959338798903947 |
| 7 | 692 | 0.49661706773599856 |
| 8 | 228 | 0.43849202639309437 |
| 9 | 133 | 0.43924036559204355 |
| 10 | 903 | 0.45583175928563546 |
| 11 | 306 | 0.4872945721019269 |
| μ_{Area} | | 363.6363636363636 |
| μ_{σ^2} | | 0.4639986147923325 |

Tabela 4: Medidas imagem Composite 02 da questão 3

| Label | Área | σ^2 |
|------------------|------|---------------------|
| 1 | 941 | 0.4277684210648956 |
| 2 | 1695 | 0.4556118821308441 |
| 3 | 666 | 0.40525879864297953 |
| 4 | 1059 | 0.43572069470571606 |
| 5 | 12 | 0.0 |
| 6 | 16 | 0.4 |
| 7 | 32 | 0.4259177099999599 |
| 8 | 614 | 0.4575055703909795 |
| 9 | 238 | 0.4908920451586072 |
| 10 | 326 | 0.48601599489223885 |
| 11 | 545 | 0.4568361539896898 |
| 12 | 538 | 0.4607481587210396 |
| 13 | 380 | 0.4781301602940294 |
| 14 | 676 | 0.4318829784202114 |
| 15 | 460 | 0.42295258468165065 |
| 16 | 582 | 0.4671203046759366 |
| 17 | 401 | 0.4567101704008951 |
| 18 | 608 | 0.47088392934829293 |
| 19 | 410 | 0.4651761912317621 |
| 20 | 569 | 0.4674783393189745 |
| μ_{Area} | | 538.4 |
| μ_{σ^2} | | 0.4281305044034352 |

Tabela 5: Medidas imagem Composite 03 da questão 3

| Label | Área | σ^2 |
|------------------|------|---------------------|
| 1 | 439 | 0.40242937354730157 |
| 2 | 582 | 0.44752576485806655 |
| 3 | 818 | 0.4909930191031277 |
| 4 | 620 | 0.4037952755903493 |
| 5 | 379 | 0.492103750082109 |
| 6 | 805 | 0.41624034679084976 |
| 7 | 495 | 0.44610698986901065 |
| 8 | 38 | 0.4566232594791834 |
| 9 | 754 | 0.4832499928148531 |
| 10 | 267 | 0.4912116538610305 |
| 11 | 84 | 0.41573970964154905 |
| 12 | 628 | 0.45786685832125873 |
| μ_{Area} | | 492.4166666666667 |
| μ_{σ^2} | | 0.4503238328298907 |

Tabela 6: Medidas imagem Composite 04 da questão 3

| Imagen | Visualmente | Min_Dist10 | Min_Dist20 | Min_Dist30 | Min_Dist40 | Min_Dist50 |
|--------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Composite 01 | 12 | 15 | 13 | 13 | 13 | 13 |
| Composite 02 | 11 | 13 | 11 | 11 | 10 | 9 |
| Composite 03 | 20 | 32 | 20 | 19 | 14 | 11 |
| Composite 04 | 12 | 16 | 12 | 11 | 11 | 10 |

Tabela 7: Comparação entre os valores do parâmetro min_dist da questão 4.