

CMP 197 - Fundamentos de Visão Computacional

Relatório do trabalho 1

Alleff Dymytry Pereira de Deus, Letícia dos Santos (275604)

O objetivo desse trabalho é fazer a segmentação e a contagem de núcleos de células em imagens de microscopia. As imagens (Apêndice A) fornecidas possuem os núcleos das células fluorescendo em vermelho sobre um fundo cinza aproximadamente uniforme. 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 1.

Claramente, as imagens da Figura 1 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.

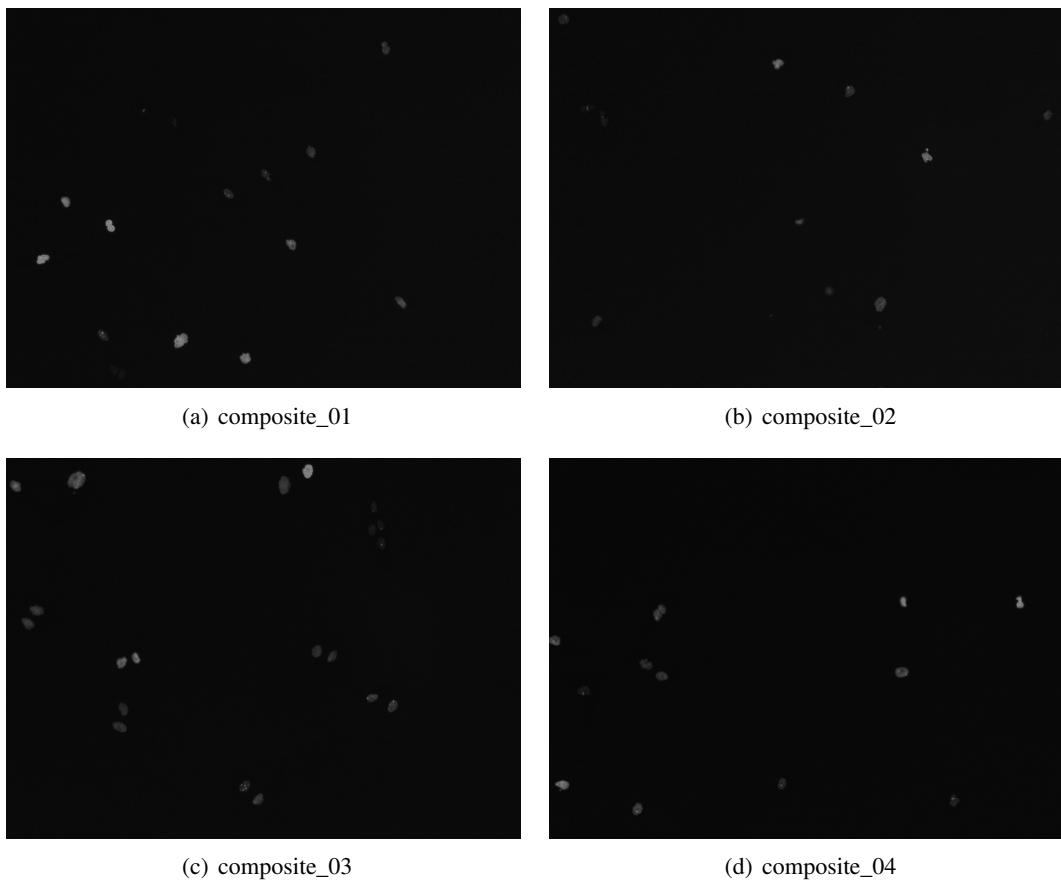


Figura 1: Imagens resultantes da questão 1

2. Questão 2

2.1. 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 2. 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.

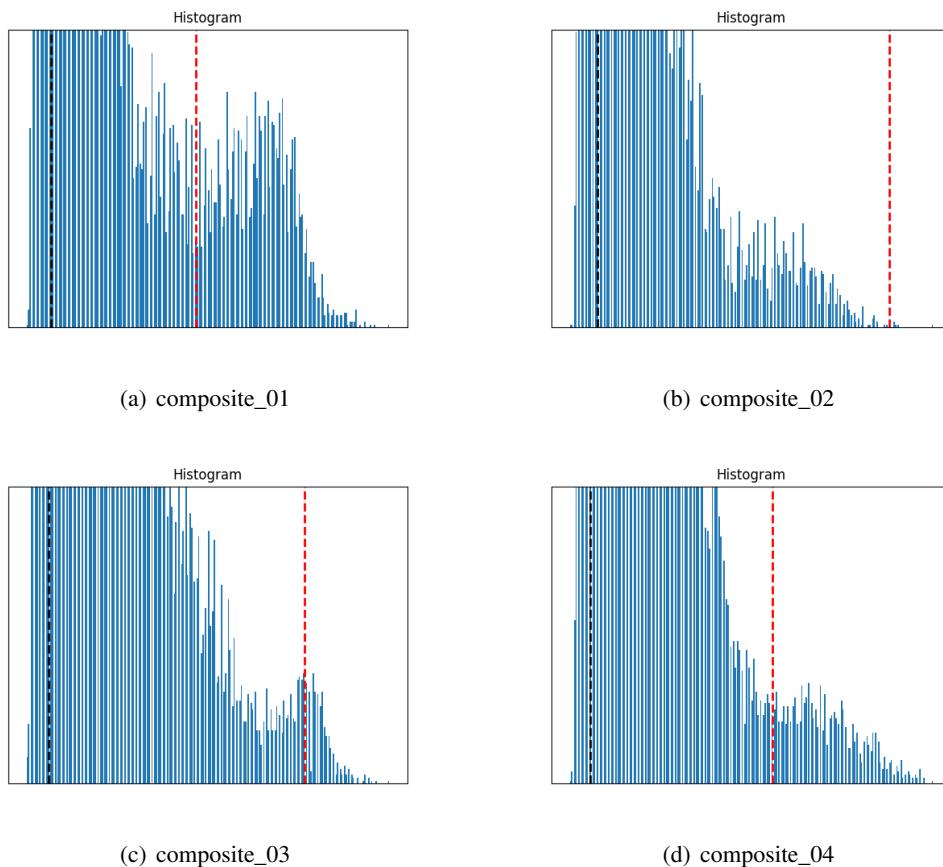


Figura 2: Histogramas com eixo y limitado em 100 ocorrências. Primeiro limiar na linha pontilhada preta e limiar automático na linha vermelha.

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 3. Os limiares estão representados na Figura 2. Observando os histogramas, o limiar automático apresentou um resultado satisfatório para Figura 2(a) e Figura 2(d). Entretanto, em Figura 2(b) e Figura 2(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 3 corroboram com os histogramas e mostram que poucos núcleos restaram após o limiar automático ser aplicado nas imagens composite_02 e composite_03.

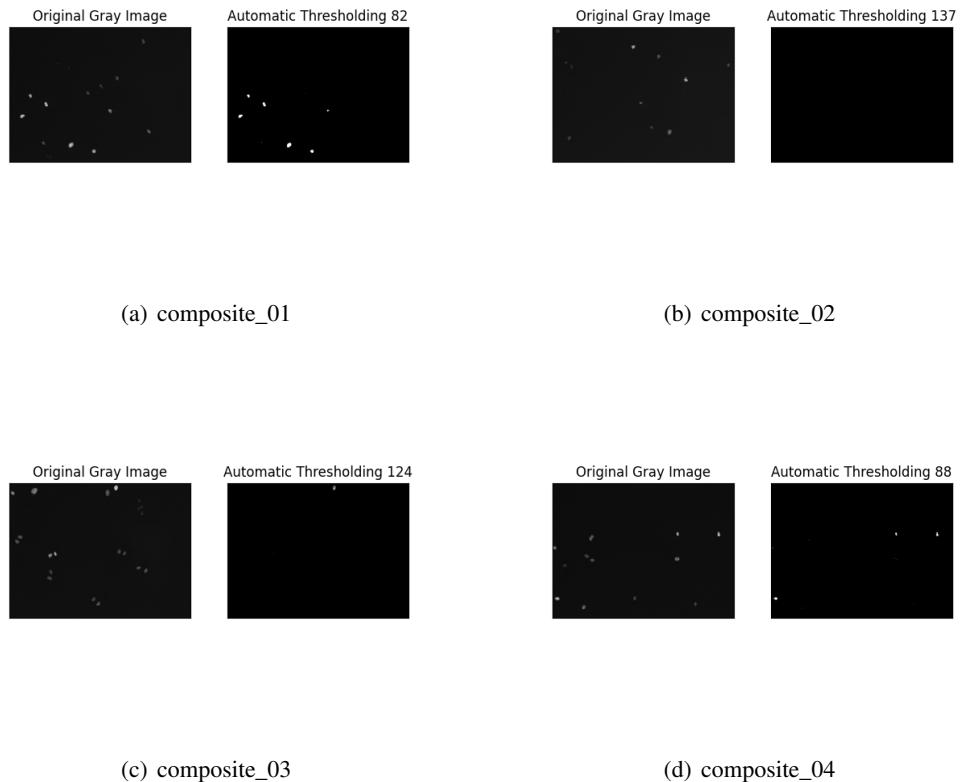


Figura 3: Imagens resultantes da questão 2(a)

2.2. b)

O resultado da técnica de Otsu está na Figura 4. É visível que o resultado foi melhor quando comparado a Figura 3, resultado do limiar automático proposto por nós.

Comparando especificamente Figura 3(c) e Figura 4(c), a técnica de Otsu resultou em vários núcleos identificados enquanto o limiar automático eliminou praticamente todos os núcleos.

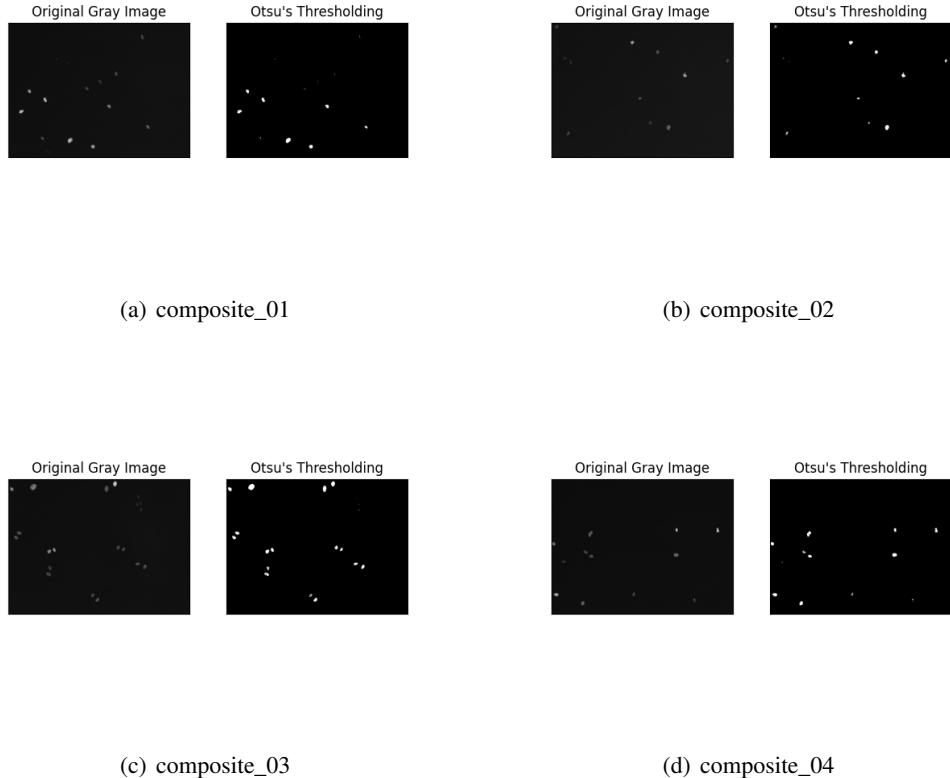


Figura 4: Imagens resultantes da questão 2(b)

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

2.3. 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 4, o 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 5(a) como referência, é possível notar que existem ao menos 12 objetos de interesse que serão utilizados para comparação com as imagens filtradas.

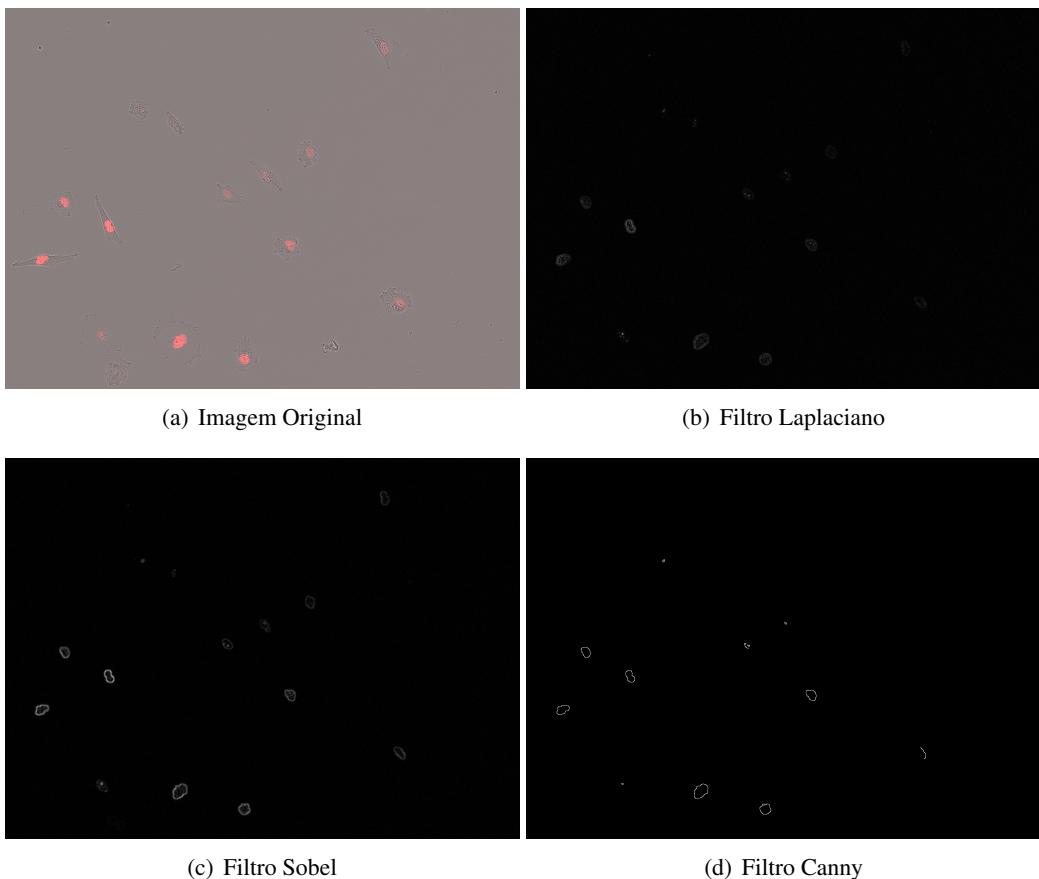


Figura 5: Imagens filtradas - Composite 01

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 5(c)). Assim, é possível notar que o filtro Laplaciano (Figura 5(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 5(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*. Para facilitar a visualização das *Watersheds* obtidas, as mesmas estão marcadas com o número que identifica o objeto encontrado. Assim, este

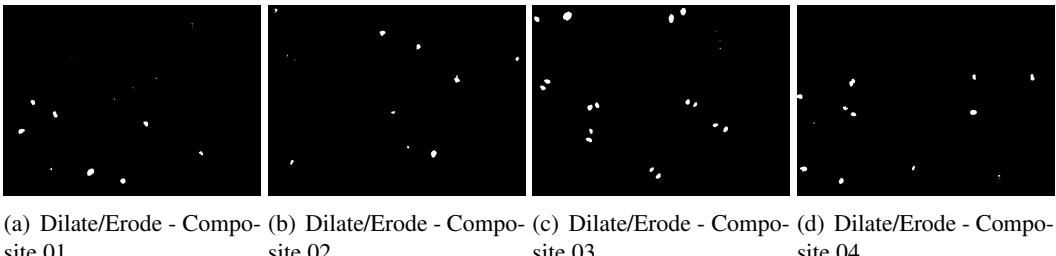


Figura 6: Imagens filtradas - Composite 01

resultado pode ser notado na Figura 7.

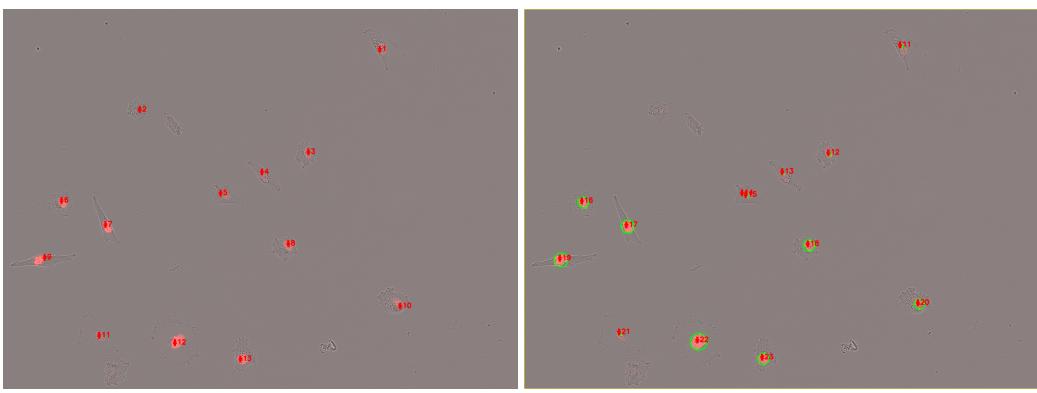


Figura 7: Watersheds obtidas - Composite 01

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.

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

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

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

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 4.

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 4: Comparação entre os valores do parâmetro min_dist

Realizando uma análise nos resultados da Tabela 4 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 + Imagem filtrada com Canny (Figura 8(a)) e (2) Imagem filtrada com Sobel + Imagem filtrada com Laplaciano (Figura 8(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.

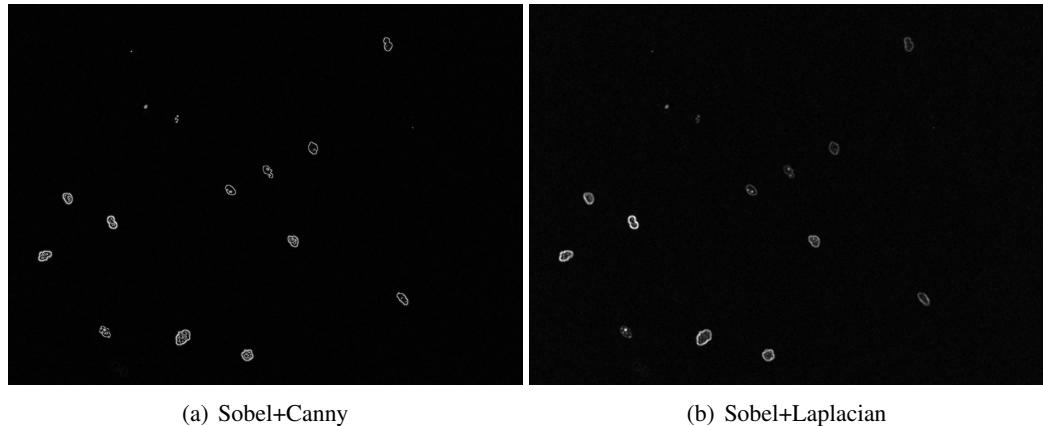


Figura 8: *Watersheds* obtidas - Composite 01

Appendices

A. Imagens Originais

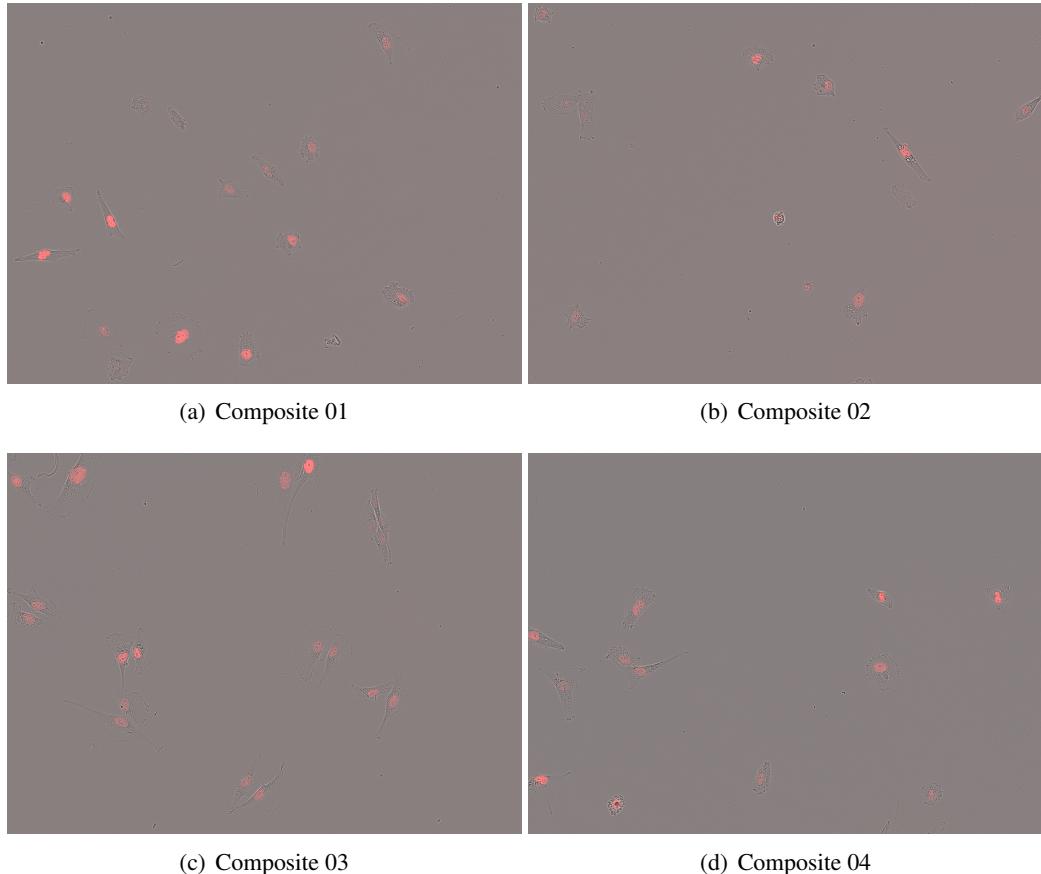


Figura 9: Imagens Originais - Composite

B. Medidas das Imagens

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 5: Medidas imagem Composite 02

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 6: Medidas imagem Composite 03

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}		492.41666666666667
μ_{σ^2}		0.4503238328298907

Tabela 7: Medidas imagem Composite 04

C. Imagens filtradas

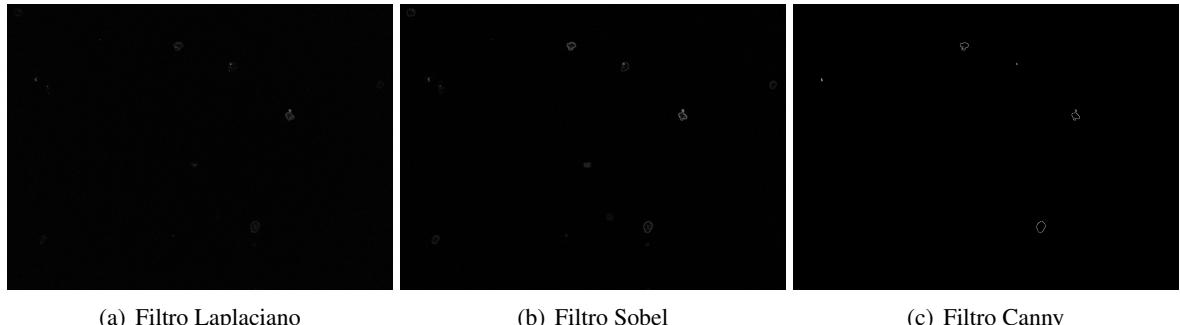


Figura 10: Imagens filtradas - Composite 02

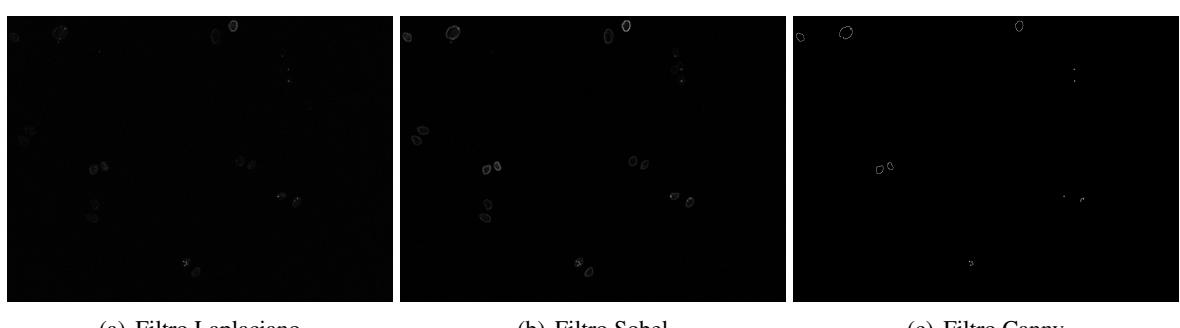


Figura 11: Imagens filtradas - Composite 03

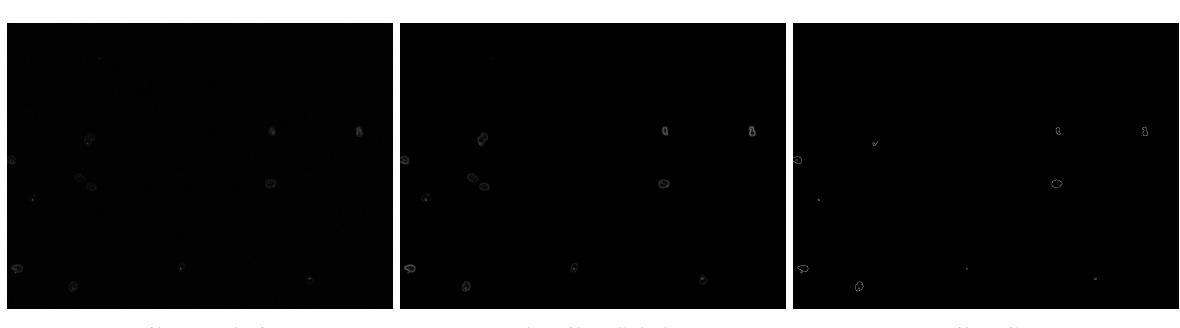


Figura 12: Imagens filtradas - Composite 04