

Avaliação de filtros de correção aplicados a imagens de embriões bovinos

Evaluation of correction filters applied to images of bovine embryos

Douglas H. Melo¹, Domingos L. L. Oliveira¹, Marcelo Z. Nascimento² e Kelly Annes³

¹Centro de Matemática, Computação e Cognição da Universidade Federal do ABC (UFABC) – Santo André (SP), Brasil.

²Faculdade de Computação da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) – Uberlândia (MG), Brasil.

³Centro de Ciências Naturais e Humanas da UFABC – Santo André (SP), Brasil.

Resumo

Este artigo apresenta uma avaliação dos filtros: bilateral, *mean shift*, *sharpen* e mediana para correção dos problemas comuns em fotomicrografia, tais como foco incorreto, vibração de instrumentos e poeira ou artefatos no sistema óptico e de captura de imagens digitais. Para os experimentos foram utilizadas imagens de embriões bovinos corados com Sudan Black B. Os resultados foram avaliados quantitativamente por meio do índice de similaridade estrutural (SSIM – *Structural Similarity Index*). Foram obtidos os valores médios de similaridade de 0,97 na aplicação do filtro de mediana para correção de ruído de poeira e artefatos, 0,81 na aplicação do filtro *sharpen* para correção de foco incorreto e 0,83 na aplicação do filtro *sharpen* para correção de vibração de instrumentos.

Palavras-chave: processamento de imagem assistida por computador, bovinos, fotomicrografia.

Abstract

This paper presents an evaluation of the following filters: bilateral, mean shift, sharpen, and median for correcting common problems in photomicrography, for example, incorrect focus, vibration of instruments, and dust or artifacts in the optical and digital image capture system. For the experiments we used images of bovine embryos stained with Sudan Black B. The results were evaluated quantitatively by means of Structural Similarity Index (SSIM). We obtained the average similarity of 0.97 in applying the median filter to correct noise and dust artifacts, 0.81 in applying the sharpen filter to correct incorrect focus and 0.83 in applying sharpen filter for correction vibration of instruments.

Keywords: computer-assisted image processing, cattle, photomicrography.

Introdução

Nos últimos anos, grandes avanços em equipamentos de fotomicrografia e em áreas como *whole slide imaging*¹, telepatologia² e sistemas CAD³ facilitaram a captura de imagens digitais e a análise dessas por meio de técnicas computacionais⁴. No entanto, assim como qualquer tipo de fotografia, a qualidade da imagem está sujeita a uma variedade de fatores, independentes do grau sofisticação do microscópio, equipamento de captura e nível de experiência de quem opera esses equipamentos⁵.

Considerando que os equipamentos funcionam de forma adequada e que a preparação do espécime foi realizada corretamente pelo especialista, esses erros ainda

podem ocorrer em duas etapas, isto é, nos procedimentos de preparação do microscópio e nas configurações do equipamento de captura da imagem⁶.

Dentre os problemas comuns que influenciam diretamente a qualidade das imagens de microscopia de luz estão: foco incorreto, vibração de instrumentos e poeira ou outros artefatos no sistema óptico e de captura de imagem⁶.

O foco incorreto ocorre quando a distância focal entre a lente objetiva e a amostra observada não é ajustada de forma apropriada. Analisando visualmente imagens com esse problema, pode-se notar que regiões distintas aparentam estar juntas, devido à perda de áreas de borda e ao efeito de suavização. O problema de vibração de instrumentos pode ser ocasionado tanto por tremores na

Autor correspondente: Douglas H. Melo – Universidade Federal do ABC (UFABC) – Avenida dos Estados, 5001 – Bangu – CEP: 09210-580 – Santo André (SP), Brasil – E-mail: dmelo85@gmail.com ou douglas.melo@ufabc.edu.br

base de suporte do microscópio, como também na captura da imagem, caso a câmera estiver acoplada e seu acionamento for manual. Por fim, poeira e outros artefatos ocorrem quando os procedimentos de manutenção e cuidados básicos com o equipamento não são aplicados, ocasionando imagens com artefatos e com falta de nitidez.

No estudo de Regitnig et al.⁷ foi proposto um método para melhoramento de imagens microscópicas obtidas por meio de câmeras digitais populares. No estudo de McNamara⁸ foi apresentada uma técnica para correção de cores em imagens de lâminas histológicas. Outro problema comum nesse tipo de imagens é o fenômeno conhecido como vigentes. Alguns estudos foram propostos para a correção desse problema⁹.

Em contraste com os estudos citados, esse artigo apresenta uma avaliação dos filtros bilateral, *mean shift*, *sharpen* e mediana para correção dos problemas comuns em fotomicrografias. Para os testes foram utilizadas imagens de embriões bovinos corados com Sudan Black B. Os resultados foram avaliados quantitativamente por meio do índice de similaridade estrutural (SSIM – *Structural Similarity Index*)⁵. Esse índice avalia a combinação de características de distorções estruturais, diferenças de luminância e contraste, entre uma imagem de referência e a imagem processada.

Material e Métodos

A Figura 1 apresenta o fluxograma do método proposto. Nas seções seguintes cada etapa será descrita em detalhes.

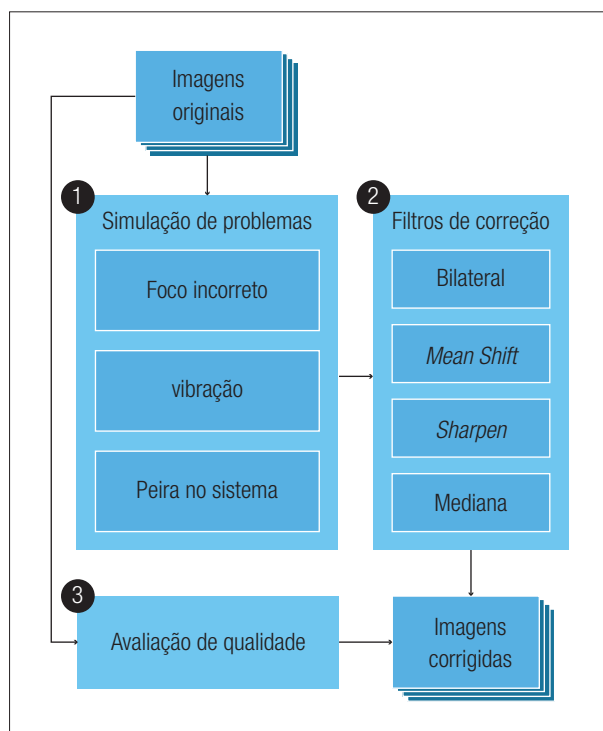


Figura 1. Fluxograma do método proposto.

Conjunto de imagens

Foram utilizadas 10 imagens de embriões bovinos coradas com Sudan Black B. As lâminas foram produzidas no Laboratório de Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal do ABC (UFABC) e obtidas por meio de um microscópio de luz invertido (Olympus IX71) com câmera digital acoplada (Lumenera Infinity 1-1). Foi selecionada a lente objetiva com magnificação de 20x e as imagens foram capturadas no formato TIFF (*True Image Format File*), padrão de cores RGB (*Red, Blue and Green*), 2048x1536 pixels, com 24 bits de quantização.

Simulação dos problemas comuns

Para simular os problemas como foco incorreto e vibração de instrumentos, foram aplicados nas imagens do conjunto os filtros de convolução com máscara circular e máscara circular com deslocamento de pixels, respectivamente. Para simulação de poeira ou outros artefatos no sistema óptico e de captura, foram adicionados nas imagens ruídos do tipo sal e pimenta (*salt and pepper*).

Para analisar a eficiência dos filtros de correção, foram definidos, para cada problema citado, três níveis: baixo, médio e alto. Cada nível foi definido com parâmetros de configuração diferentes que podem ser visualizados na Tabela 1.

A Figura 2A apresenta uma imagem original de embrião e a Figura 2B, uma região de interesse ampliada. Nas Figuras 2C a 2E são apresentados: um exemplo de aplicação do nível fraco dos filtros com máscara circular, máscara circular com deslocamento e adição de ruído sal e pimenta, respectivamente.

Aplicação de filtros para correção

Após gerar as imagens com a simulação dos problemas foram aplicados nas imagens os filtros: bilateral, *mean shift*, *sharpen* e mediana.

O filtro bilateral é um filtro não linear, que preserva a suavização das bordas. Outro trabalho¹⁰ propõe aplicar um filtro bilateral à imagem de entrada que suaviza o bloqueio diretamente nos artefatos sem suavização das bordas. O filtro bilateral modifica os valores de pixels pela média ponderada dos valores de pixels da sua vizinhança, onde os pesos são determinados utilizando tanto a intensidade quanto a distância espacial.

Tabela 1. Configurações dos parâmetros dos filtros de simulação de problemas.

	Máscara circular	Máscara circular e deslocamento		Sal e pimenta
	Raio	Raio	Direção	Densidade
Fraco	5	10	45°	0,01
Médio	10	25	45°	0,05
Forte	15	40	45°	0,10

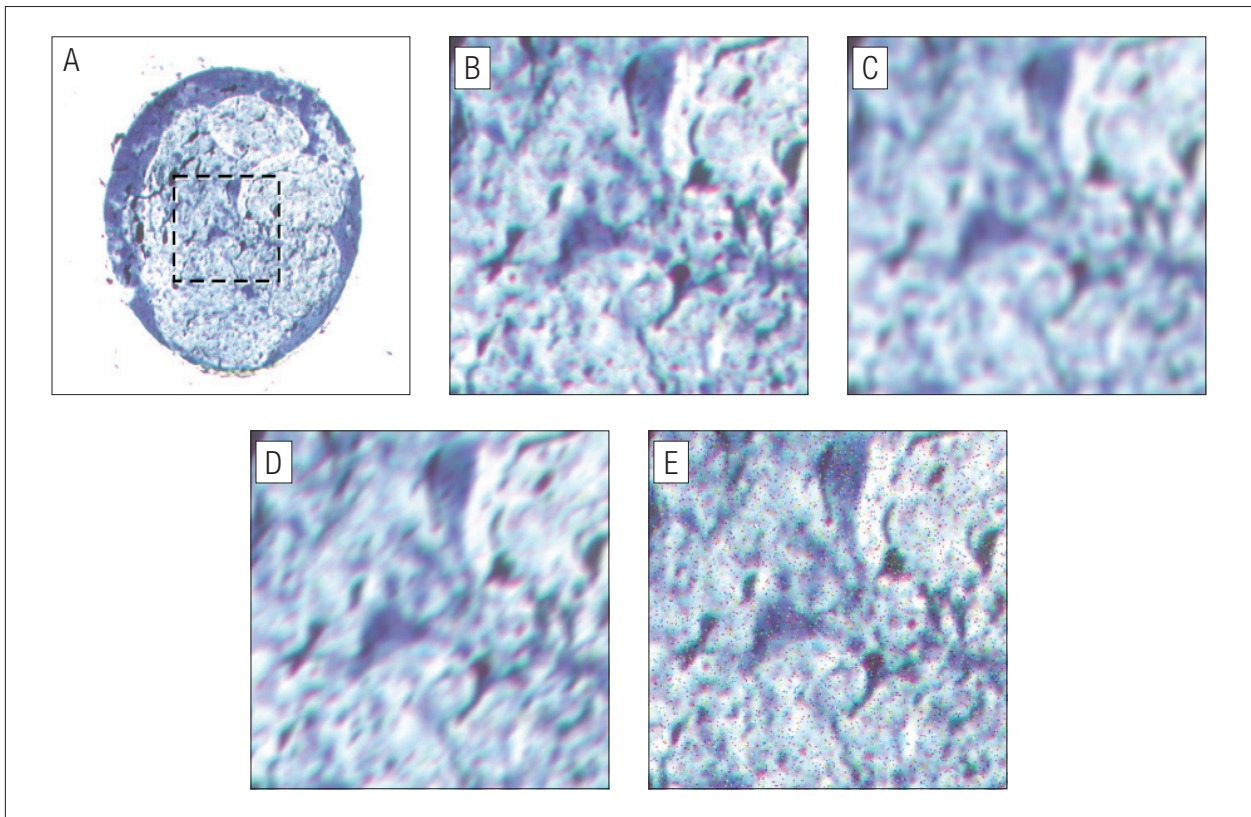


Figura 2. (A) Imagem original de embrião bovino corado com Sudan Black B. (B) Região ampliada da imagem original. Exemplo de simulação de problemas comuns: (C) foco incorreto, (D) vibração de instrumentos e (E) poeira no sistema óptico e de captura.

O filtro *mean shift* pode ser utilizado para seleção de recursos, rastreamento de objetos e remoção de ruídos. É uma técnica de agrupamento de características espaciais não parametrizáveis, que não requer conhecimento prévio sobre o número de agrupamentos e não restringe a forma dos agrupamentos¹¹.

O nome *unsharp* vem do fato de que o filtro *sharpen* utiliza uma técnica a partir de uma imagem positiva borrada, ou *unsharp*, para criar uma máscara da imagem original. A máscara *unsharped* é então combinada com a imagem negativa, criando uma imagem menos embaçada do que a original. O resultado é uma imagem mais clara, porém com provável perda de precisão. *Unsharp masking* é expressa pela Equação 1. Para uma imagem com escala de cinza $Gr(x,y)$, definimos uma máscara¹².

$$Gr_{mask}(x,y) = Gr(x,y) - \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n \lambda(i,j) Gr(i,j) \quad (1)$$

onde $\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n \lambda(i,j) Gr(i,j)$ é a média dos $n \times n$ vizinhos centralizados em x,y , e $\lambda(i,j)$ é o conjunto de pesos positivos.

O filtro de mediana supera as principais limitações do filtro média, embora a um custo computacional maior. À medida que o pixel é abordado, ele é substituído pela

mediana estatística de $n \times m$ vizinhos, sendo melhor do que a simples média. O filtro de mediana preserva os detalhes de alta frequência, como bordas, e ao mesmo tempo elimina o ruído¹³.

Avaliação quantitativa

Para avaliar quantitativamente os resultados de correção obtidos pelas aplicações dos filtros nas imagens com efeitos e ruídos foi utilizado o SSIM⁵. Essa métrica analisa as distorções estruturais, diferenças de luminância e contraste, entre uma imagem de referência e a imagem processada. O resultado produzido é um valor entre 0 e 1, sendo 1 quando a imagem processada é idêntica à imagem de referência.

Resultados

As Figuras 3A a 3F apresentam: uma região de interesse de uma imagem de embrião bovino, a imagem de simulação de foco incorreto e os resultados de aplicação dos filtros de correção bilateral, *mean shift*, *sharpen*, e mediana, respectivamente.

Nas Figuras 4A a 4F são apresentadas: uma região de interesse de uma imagem de embrião bovino, a imagem de simulação do efeito de vibração de instrumentos e os

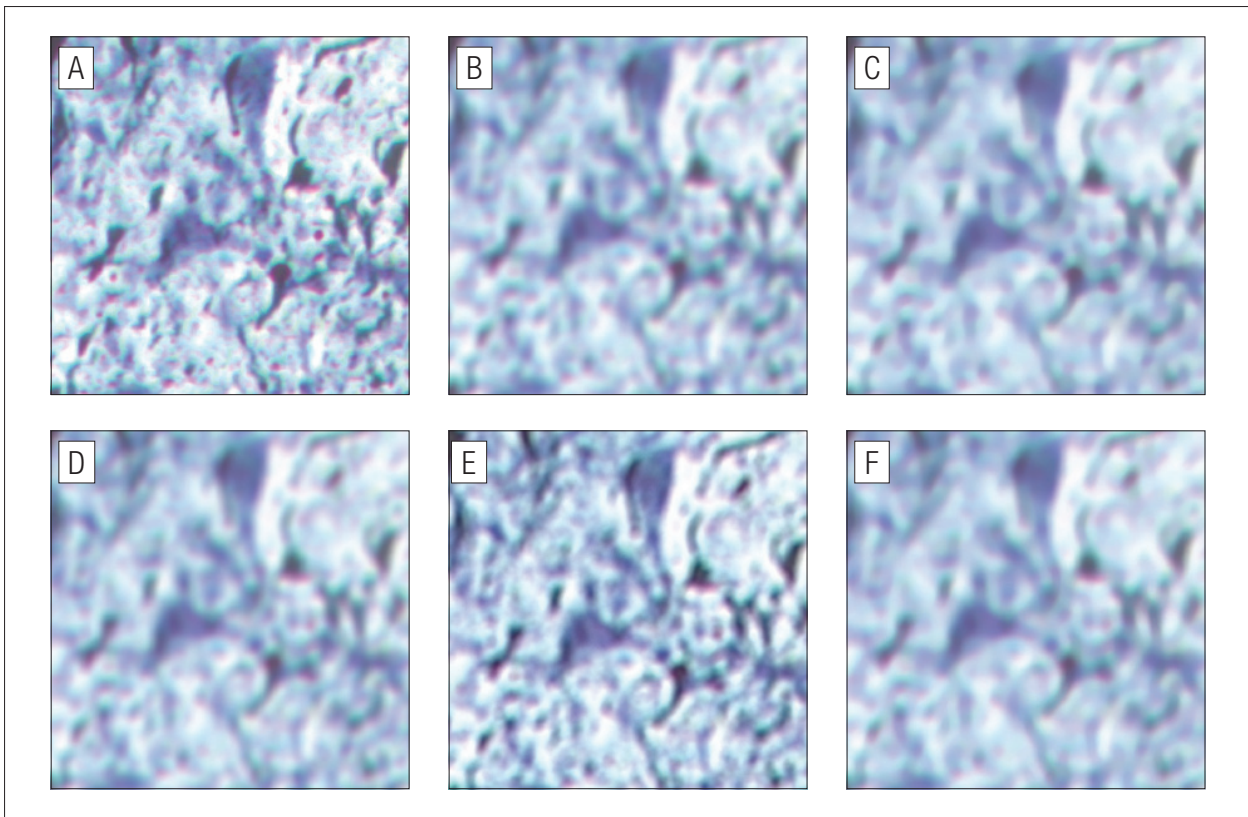


Figura 3. (A) Região de Interesse de uma imagem de embrião bovino corado com Sudan Black B. (B) Simulação de foco incorreto (nível fraco). Aplicações dos filtros de correção: (C) bilateral, (D) *mean shift*, (E) *sharpen* e (F) mediana.

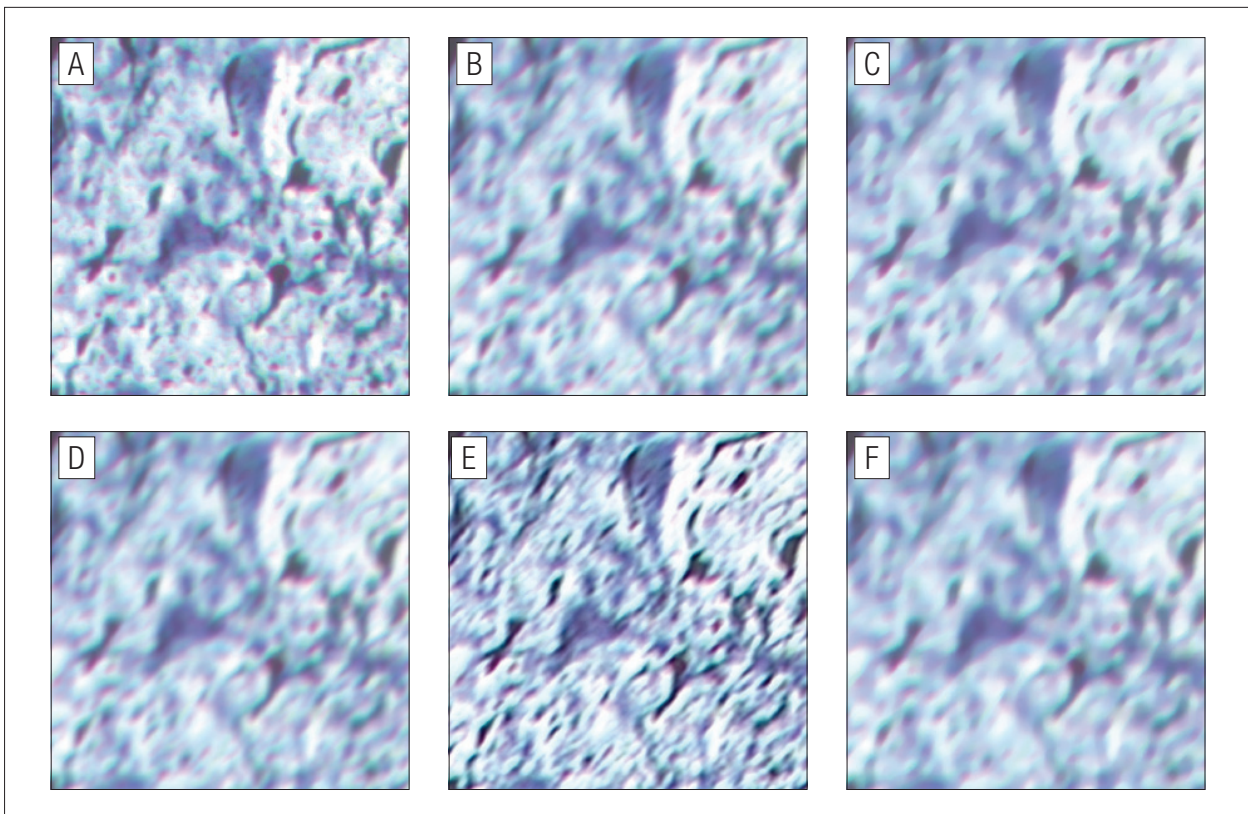


Figura 4. (A) Região de interesse de uma imagem de embrião bovino corado com Sudan Black B. (B) Simulação de vibração de instrumento (nível fraco). Aplicações dos filtros de correção: (C) bilateral, (D) *mean shift*, (E) *sharpen* e (F) mediana.

resultados de aplicação dos filtros de correção bilateral, *mean shift*, *sharpen*, e mediana, respectivamente.

Por fim, nas Figuras 5A a 5F são apresentadas: uma região de interesse de uma imagem de embrião bovino, a imagem de simulação do efeito de poeira ou outros artefatos no sistema óptico e de captura e os resultados de aplicação dos filtros de correção bilateral, *mean shift*, *sharpen*, e mediana, respectivamente.

Os resultados quantitativos de correção obtidos por meio das aplicações dos filtros, nas imagens com problemas de foco incorreto, vibração de instrumentos e poeira no sistema óptico e de captura são apresentados nas Tabelas 2 a 4, respectivamente.

Tabela 2. Resultados da aplicação dos filtros para correção do problema de foco incorreto.

Nível	Efeito	Bilateral	<i>Mean Shift</i>	<i>Sharpen</i>	Mediana
Fraco	0,95	0,92	0,93	0,96	0,93
Médio	0,79	0,78	0,77	0,80	0,78
Forte	0,68	0,69	0,67	0,68	0,69
Média	0,80	0,79	0,79	0,81	0,80

Tabela 3. Resultados da aplicação dos filtros para correção do problema de vibração.

Nível	Efeito	Bilateral	<i>Mean Shift</i>	<i>Sharpen</i>	Mediana
Fraco	0,97	0,95	0,95	0,93	0,95
Médio	0,82	0,81	0,80	0,82	0,82
Forte	0,74	0,73	0,72	0,74	0,73
Média	0,84	0,83	0,82	0,83	0,83

Tabela 4. Resultados da aplicação dos filtros para correção do problema de poeira no sistema.

Nível	Efeito	Bilateral	<i>Mean Shift</i>	<i>Sharpen</i>	Mediana
Fraco	0,88	0,87	0,91	0,75	0,98
Médio	0,67	0,66	0,73	0,56	0,98
Forte	0,56	0,55	0,63	0,50	0,97
Média	0,70	0,69	0,75	0,60	0,97

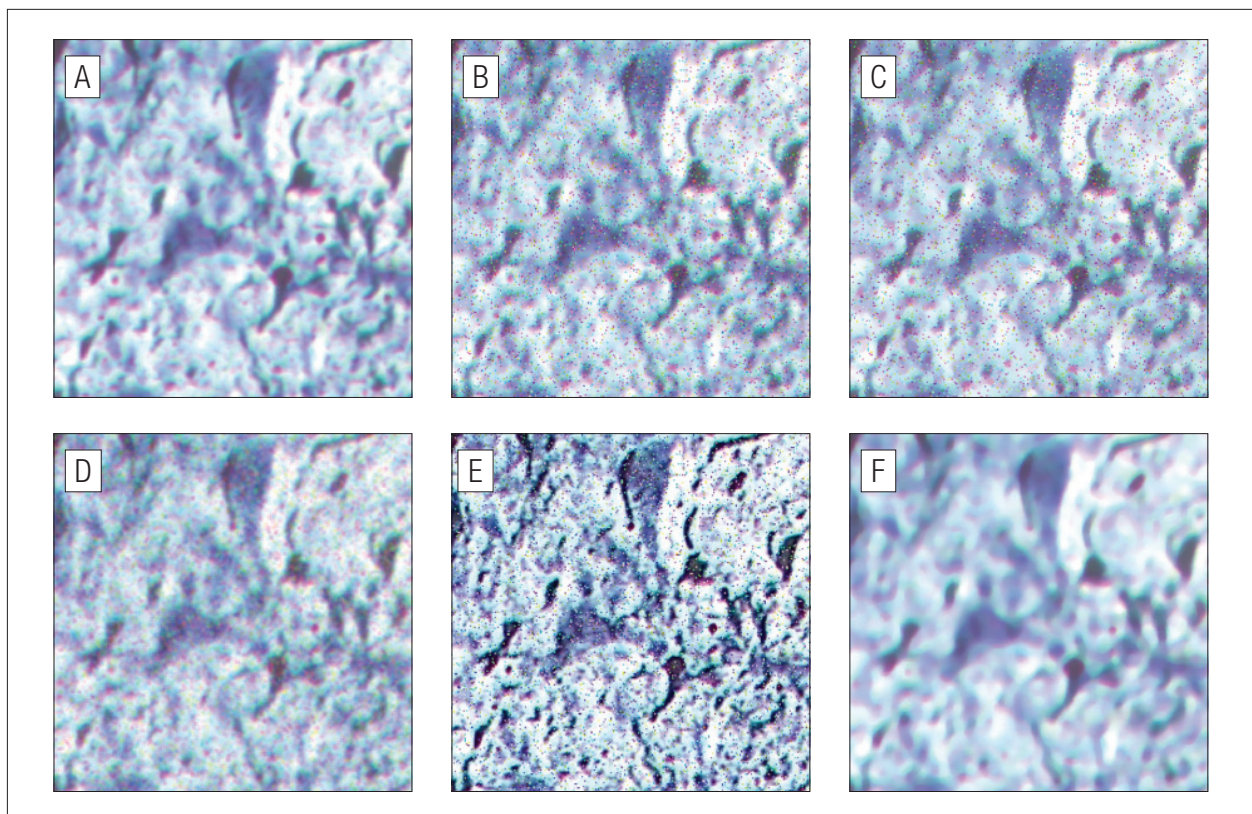


Figura 5. (A) Região de interesse de uma imagem de embrião bovino corado com Sudan Black B. (B) Simulação de poeira ou outros artefatos no sistema óptico e de captura (nível fraco). Aplicações dos filtros de correção: (C) bilateral, (D) *mean shift*, (E) *sharpen* e (F) mediana.

Discussão e Conclusões

Comparando as Figuras 3A e 3E pode-se notar que com a aplicação do filtro *sharpen* obteve-se um bom resultado, minimizando o efeito do foco incorreto. Esse filtro também mostrou melhoras na correção do efeito de vibração, que pode ser observado na Figura 4E.

Na imagem com simulação de poeira e outros artefatos no sistema óptico (Figura 5B), o filtro de mediana removeu os ruídos, no entanto sua aplicação ocasionou uma suavização da imagem (Figura 5F).

Com exceção das aplicações para correção do problema de poeira e outros artefatos (Tabela 4), pode-se notar que os resultados de qualidade das aplicações para correção de foco e vibração (Tabelas 2 e 3) não apresentaram resultados significativos de índice de similaridade estrutural.

Porém, uma análise visual qualitativa das imagens resultantes da aplicação do filtro de *sharpen* apresenta uma melhora de contraste e definição de estruturas (Figuras 3E e 4E). Essa disparidade entre os resultados qualitativos e quantitativos ocorreu porque a métrica considera três fatores: diferenças estruturais, contraste e luminância. No caso da correção de foco e vibração, o filtro *sharpen* tem forte influência na correção de contraste e de luminância, mas não contribui com o mesmo peso para a correção de diferenças estruturais perdidas no momento da simulação do problema. Com base nessa constatação, para trabalhos futuros, serão aplicadas outras combinações de filtros de pré-processamento.

Além disso, para comparar resultados de métricas, os filtros serão avaliados com a métrica de erro médio quadrático (EMQ)¹⁴.

Agradecimentos

Agradecemos ao Laboratório de Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal do ABC (UFABC) por fornecer as imagens utilizadas neste estudo.

Referências

1. Pantanowitz L, Valenstein PN, Evans AJ, Kaplan KJ, Pfeifer JD, Wilbur DC, et al. Review of the current state of whole slide imaging in pathology. *J Pathol Inform.* 2011;2:36.
2. Weinstein RS, Graham AR, Richter LC, Barker GP, Krupinski EA, Lopes AM, et al. Overview of telepathology, virtual microscopy, and whole slide imaging: prospects for the future. *Hum Pathol.* 2009; 40(8):1057-69.
3. Gurcan MN, Boucheron L, Can A, Madabhushi A, Rajpoot N, Yener B. Histopathological image analysis: a review. *IEEE Rev Biomed Eng.* 2009;2:147-71.
4. Wu Q, Merchant F, Castleman KR. *Microscope image processing.* London: Academic Press; 2010.
5. Wang Z, Bovik AC, Sheikh HR, Simoncelli EP. Image quality assessment: from error visibility to structural similarity. *IEEE Trans Image Process.* 2004;13(4):600-12.
6. Kapitzka HG. *Microscopy from the very beginning.* Carl Zeiss Jena; 1997.
7. Regitnig P, van Paasen R, Tsybrovskyy O. How to improve microscopic images obtained with consumer-type digital cameras. *Histopathology.* 2003;42(5):503-8.
8. McNamara G. Color balancing histology images for presentations and publication. *J Histotechnol.* 2005;28(2):81-8.
9. Babaloukas G, Tentolouris N, Liatis S, Sklavounou A, Perrea D. Evaluation of three methods for retrospective correction of vignetting on medical microscopy images utilizing two open source software tools. *J Microsc.* 2011;244(3):320-4.
10. Nath VK, Hazarika D, Mahata A. Blocking artifact reduction using adaptive bilateral filtering. In: *Signal Processing and Communications (SPCOM), 2010 International Conference on Signal Processing and Communications.* Bangalore; 2010. p. 1-5.
11. Han H, Sohn K. Automatic illumination and color compensation using mean shift and sigma filter. *IEEE Trans Consumer Electron.* 2009; 55(3):978-86.
12. Alsam A. Colour constraint image sharpening. In: *ICPR 20th International Conference on Pattern Recognition.* Washington; 2010. p. 4545-8.
13. Jain AK. *Fundamental of digital image processing.* New Jersey: Prentice-Hall Inc.; 1989. p. 92-4.
14. Wang Z, Bovik AC. Mean squared error: love it or leave it? A new look at signal fidelity measures. *IEEE Signal Processing Mag.* 2009; 26(1):98-117.