# UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS FACULDADE DE TECNOLOGIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

# FUSÃO DE IMAGENS MULTIFOCAIS E REALCE DE NITIDEZ: UMA CONTRIBUIÇÃO AO DIAGNÓSTICO AUTOMÁTICO DA TUBERCULOSE

KELY MACIEL BRAULE PINTO

MANAUS

2017

## UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

### FACULDADE DE TECNOLOGIA

## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

### KELY MACIEL BRAULE PINTO

# FUSÃO DE IMAGENS MULTIFOCAIS E REALCE DE NITIDEZ: UMA CONTRIBUIÇÃO AO DIAGNÓSTICO AUTOMÁTICO DA

## TUBERCULOSE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica, área de concentração Controle e Automação de Sistemas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marly Guimarães Fernandes Costa

Co-orientador: Prof. Dr. Cícero Ferreira Fernandes Costa Filho

MANAUS

2017

### Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).



### KELY MACIEL BRAULE PINTO

# FUSÃO DE IMAGENS MULTIFOCAIS E REALCE DE NITIDEZ: UMA CONTRIBUIÇÃO AO DIAGNÓSTICO AUTOMÁTICO DA TUBERCULOSE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica na área de concentração Controle e Automação de Sistemas.

Aprovado em 17 de abril de 2017.

### BANCA EXAMINADORA

Prof<sup>a</sup>. Dra. Marly Guimarães Fernandes Costa, Presidente Universidade Federal do Amazonas- UFAM

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciana Botinelly Mendonça Fujimoto, Membro

Universidade Federal do Amazonas= UFAM

Prof. Dr. Marco Antônio Gutierrez, Membro

Universidade de São Paulo- INCOR/HC/USP

A Deus por me proporcionar todos os recursos para realização deste trabalho;

Aos meus familiares pelo apoio;

Aos meus orientadores, professores Marly Guimarães F. Costa e Cícero F. F. Costa Filho, pelo direcionamento;

Aos meus colegas Francisco e Liset e professores Dr. Maurício Ogusku e Dra. Luciana Fujimoto pela cooperação durante a aquisição dos materiais utilizados neste trabalho;

Aos professores do curso de pós-graduação pelo conhecimento a mim concedido;

Ao Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Tecnologia Eletrônica e da Informação pela disponibilização da infraestrutura laboratorial para o desenvolvimento deste trabalho;

À Samsung pela concessão de bolsa de estudo através do Projeto de pesquisa e formação de recursos humanos, em nível de graduação e pós-graduação, nas áreas de automação industrial, softwares para dispositivos móveis e TV Digital, financiado pela Samsung Eletrônica da Amazônia Ltda., no âmbito da Lei no. 8.387 (art. 2°) /91;

À FAPEAM, através do projeto "Construção de um banco de imagens para o benchmarking de algoritmos de detecção de bacilos: Uma contribuição ao Diagnóstico Automático da Tuberculose através da Baciloscopia de Campo Claro", edital nº016/2013 – PROTI/ PESQUISA;

À Universidade Federal do Amazonas pela oportunidade.

AGRADEÇO

### RESUMO

A tuberculose é uma doença causada pelo Mycobacterium tuberculosis que persiste como uma das doenças transmissíveis mais mortais do mundo, sendo necessários esforços para combatêla. A baciloscopia de campo claro é um exame utilizado para diagnosticar a tuberculose. Aplicações automatizadas em imagens microscópicas, como a baciloscopia de campo claro automatizada, enfrentam um grande problema: o efeito borrado nas imagens adquiridas. Dessa forma, ressalta-se a importância da utilização de técnicas de fusão de imagens multifocais para contornar este problema. Neste contexto, este trabalho tem o objetivo de propor um método para fusão de imagens multifocais aplicados a imagens baciloscópicas de campo claro, visando a obtenção de imagens onde o maior número possível de bacilos esteja em foco, e emprego de realce às imagens resultantes. Este fator é de grande importância para viabilização da baciloscopia automatizada. Para levantamento de esquemas de fusões existentes, foram feitas simulações e análises com algumas das técnicas presentes na literatura. Ao analisar o desempenho destas técnicas através das métricas de qualidade Multichanel Edge Information *Preservation* e Variância, foi possível propor quatro novos métodos baseados nas melhores técnicas presentes na literatura, dentre os quais, o método de melhor desempenho foi escolhido para investigação de configurações que garantissem a melhor qualidade das imagens processadas. Foi proposto ainda a utilização da máscara de nitidez como pós-processamento adicional, sendo mostrado através de exemplos a eficiência deste processo no aumento de nitidez e aspecto visual. Como trabalhos futuros, sugere-se avaliação do referido método utilizando imagens em escala de cinza para verificar o impacto no tempo de processamento e a qualidade das imagens, além da avaliação da aplicabilidade do registro das imagens multifocais.

*Palavras-chave:* fusão de imagens multifocais, imagens baciloscópicas; *Mycobacterium tuberculosis*.

### ABSTRACT

Tuberculosis is a disease caused by Mycobacterium tuberculosis that remains one of the deadliest diseases in the world, being necessary efforts to combat it. The conventional light bacilloscopy is a sputum smear microscopic examination to diagnose tuberculosis. Automated applications in microscopic images, such as automated bacilloscopy, face a big problem: blurriness in the images acquired. Thus, it is emphasized the importance of using multi-focus image fusion methods to overcome this problem. In this context, this work aims to propose a method to multi-focus image fusion applied to sputum smear microscopy images in order to obtain images where the greatest number of bacilli is in focus and application of sharpness enhancement to the resulting images. This factor has great importance to enabling automated sputum smear microscopy. To find out existing schemes, we performed simulations and analyzes in some of the techniques in the literature. When it was analized the performance of these techniques through the quality metrics Multichanel Edge Information Preservation and Variance, it was possible to propose four new methods based on the best techniques in the literature, among which, the method with the best performance was choose to investigate configurations that would guarantee the best quality of processed. Has also been proposed the use of an unsharp masking to the post-processing of the new methods, and is shown through examples the effectiveness of this process in increased sharpness and visual appearance. As future work, it is suggested to evaluate this method using grayscale images to verify the impact on the processing time and the quality of the fused images, also the evaluation of the applicability of the image registration.

*Keywords:* multi-focus image fusion, sputum smear microscopic images; *Mycobacterium tuberculosis*.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Incidência global da TB ativa (pulmonar e extrapulmonar)16
Figura 2 - Representação de um campo microscópico ao se observar uma lâmina por meio de
um microscópio de luz
Figura 3 - Formas de apresentação dos BAAR18
Figura 4 – Ilustração da análise baciloscópica 19
Figura 5 - Número de artigos publicados por ano no período de 2008 a 2016, no tema de
baciloscopia de campo claro automatizada
Figura 6 – Onze profundidades focais de uma região contendo bacilos
Figura 7 - Esquema do processo de aquisição de imagens microscópicas digitais
Figura 8 - Pilha de imagens multifocais de um campo microscópico
Figura 9 - Decomposição da SWT e o procedimento de cálculo do filtro
Figura 10 - Aplicação da SWT em uma imagem em escala de cinza e coeficientes resultantes.
Figura 11 - Diagrama de blocos que apresenta o delineamento metodológico da pesquisa e
desenvolvimento realizados
Figura 12 - Conjunto de 11 imagens em diferentes profundidades focais de um campo
baciloscópico
Figura 13 – Ilustração do processo de extração de sub-imagens de BAAR
Figura 14 – Exemplo de uma pilha de BAAR58
Figura 15 – Gráfico dos valores de Variância para as 2983 imagens de BAAR extraídos das
imagens de baciloscopia de campo claro fundidas resultantes de cada técnica testada
Figura 16 - Gráfico dos valores de MEIP para as 2983 imagens de BAAR extraídos das imagens
de baciloscopia de campo claro fundidas resultantes de cada técnica testada

Figura 17 - Esquema básico dos métodos de fusão propostos para imagens coloridas baseados
no domínio da frequência e no espaço de cor RGB67
Figura 18 - Gráfico dos valores de Variância para as 2983 imagens de BAAR extraídos das
imagens de baciloscopia de campo claro fundidas resultantes de cada um dos 10 métodos
avaliados71
Figura 19 - Gráfico dos valores de MEIP para as 2983 imagens de BAAR extraídos das imagens
de baciloscopia de campo claro fundidas resultantes de cada um dos 10 métodos avaliados. 71
Figura 20 - Gráfico dos valores de Variância para as 2983 imagens de BAAR extraídos das
imagens de baciloscopia de campo claro fundidas resultantes obtidas pelo processamento das
técnicas da literatura e do método 3 com a configuração testada como a melhor
Figura 21 - Gráfico dos valores de MEIP para as 2983 imagens de BAAR extraídos das imagens
de baciloscopia de campo claro fundidas resultantes obtidas pelo processamento das técnicas
da literatura e do método 3 com a configuração testada como a melhor
Figura 22 – Exemplos de imagens de BAAR para análise visual
Figura 23 – Aplicação da máscara de nitidez

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Melhores resultados para as métricas MSE, SNR, UQI e AUQI aplicadas aos 5
primeiros conjuntos de imagens
Tabela 2 - Melhores resultados para a métrica AUQI aplicadas aos 5 últimos conjuntos de
imagens (sem imagem de referência)
Tabela 3 - Melhores resultados para a métrica RMSE aplicadas aos 2 conjuntos de imagens.28
Tabela 4- Melhores resultados para as métricas EIP e MI aplicadas aos 3 conjuntos de imagens.
Tabela 5- Melhores resultados para as métricas Q, Q <sub>WT</sub> e Q <sub>E</sub> aplicadas ao conjunto de imagens.
Tabela 6 - Melhores resultados para a métrica PSNR aplicada aos conjuntos de imagens 31
Tabela 7 - Melhores resultados para as métricas RMS e PSNR aplicadas aos conjuntos de
imagens
Tabela 8 - Melhores resultados para as métricas IC, SF, CC, RMSE, MI, AE e PSNR aplicadas
aos conjuntos de imagens
Tabela 9- Melhores resultados para as métricas ISM e ICM aplicadas ao conjunto de imagens.
Tabela 10 - Resumo dos artigos abordados na revisão de literatura para técnicas de fusão de
imagens multifocais no domínio espacial
Tabela 11 - Resumo dos artigos abordados na revisão de literatura para técnicas de fusão de
imagens multifocais no domínio da frequência
Tabela 12 - Constantes definidas para cálculo da métrica EIP 43
Tabela 13 - Resumo dos artigos abordados na revisão de literatura para métricas para fusão de
imagens multifocais

Tabela 14 - Exemplos de famílias wavelet e funções base disponíveis para operação de sinais. Tabela 15 – Informações a respeito da baciloscopia das lâminas utilizadas e imagens oriundas. Tabela 16 - Informações a respeito da média e desvio-padrão resultantes para as métricas de qualidade aplicadas às técnicas PMV, FRE, CSM, WGL, EMM e ZEN 2 Pro avaliando 2983 Tabela 18 - Métodos propostos baseados na análise dos métodos implementados na Fase 1. 65 Tabela 19 - Informações a respeito da média e desvio-padrão resultantes para as métricas de qualidade aplicadas às técnicas PMV, FRE, CSM, WGL, EMM, ZEN 2 Pro e métodos Tabela 20 - Resultado do teste estatístico de significância da diferença entre as médias do FRE Tabela 21 - Resultado do teste estatístico de significância da diferença entre as médias do WGL Tabela 22 - Resultado do teste estatístico de significância da diferença entre as médias do CSM e do método proposto com respeito à métrica MEIP......74 Tabela 24 - Desempenho apresentado pelo método proposto em função dos parâmetros da Tabela 25 - Desempenho apresentado pelo método proposto em função dos parâmetros do filtro Tabela 26 - Desempenho apresentado pelo método proposto em função dos parâmetros do filtro 

Tabela 27 - Informações a respeito da média e desvio-padrão resultantes para as métricas de
qualidade aplicadas às técnicas PMV, FRE, CSM, WGL, EMM, ZEN 2 Pro e métodos proposto
com a configuração determinada experimentalmente avaliando 2983 imagens de BAAR
fundidas
Tabela 28 - Resultado do teste estatístico de significância da diferença entre as médias do FRE
e do método proposto (otimizado) com respeito a métrica de variancia
Tabela 29 - Resultado do teste estatístico de significância da diferença entre as médias do WGL
e do método proposto (otimizado) com respeito a métrica de variancia
Tabela 30 - Resultado do teste estatístico de significância da diferença entre as médias do CSM
e do método proposto (otimizado) com respeito à metrica MEIP

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE	-	Average error
AUQI	_	Average universal quality index
BAAR	_	Bacilos Álcool-Ácido Resistentes
CC	_	Correlation coefficient
CEIP	_	Colour edge information preservation
DWT	_	Discrete wavelet transform
EIP	_	Edge information preservation
HIV	_	Human Immunodeficiency Virus
HSI	_	Hue, saturation, intensity
IC	_	Image clarity
ICM	_	Image contrast metric
IDWT	_	Inversed discrete wavelet transform
IHS	_	Intensity-hue-saturation
IQWT	_	Inversed quaternion wavelet transform
ISM	_	Image sharpness metric
ISWT	_	Inversed stationary wavelet transform
MEIP	_	Multichanel edge information preservation
MI	_	Mutual information
MSE	_	Mean square error
ND		Níveis de decomposição
OMS		Organização Mundial de Saúde
PSNR	_	Peak signal noise rate
QWT	_	Quaternion wavelet transform

RGB	_	Red, green and blue
RMS	_	Root mean square
RMSE	_	Root mean square error
SF	_	Spatial frequency
SNR	_	Signal to noise ratio
SWT	_	Stationary wavelet transform
ТВ	_	Tuberculose
UQI	_	Universal quality index

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO15
1.1 A tuberculose
1.2 A baciloscopia de campo claro automatizada18
1.3 A fusão de imagens multifocais e sua contribuição à baciloscopia de campo claro
automatizada21
1.4 Objetivos
1.5 Organização do trabalho
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA
2.1 Pesquisa bibliográfica25
2.2 Técnicas de fusão de imagens multifocais25
2.3 Métricas de qualidade para fusão de imagens multifocais40
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA48
3.1 Imagens microscópicas em diferentes profundidades focais (multifocais) 48
3.2 Transformada Wavelet Estacionária
4 MATERIAIS E MÉTODOS
4.1 Delineamento da pesquisa
4.2 Materiais
4.3 Fase 1: Métodos de fusão de imagens multifocais presentes na literatura
4.4 Fase 1: Métricas de qualidade60

4.5 Fase 1: Implementação e análise de desempenho dos métodos de fusão de imagens
multifocais presentes na literatura61
4.6 Fase 2: Desenvolvimento de novas propostas
4.7 Fase 3: Otimização do método proposto de melhor desempenho
4.8 Fase 3: Pós-processamento adicional: Realce de nitidez
4.9 Ambiente de Implementação 68
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES
5.1 Avaliação de desempenho dos métodos propostos70
5.1.1 Validação estatística dos resultados73
5.2 Otimização dos parâmetros de configuração75
5.2.1 Parâmetros da SWT75
5.2.2 Parâmetros do filtro de média79
5.2.3 Parâmetros do filtro majoritário
5.3 Avaliação de desempenho do método proposto com a configuração otimizada
5.4 Aplicação e análise do realce de nitidez
5.5 Considerações finais a respeito dos resultados apresentados
6 CONCLUSÕES
REFERÊNCIAS
APÊNDICE A
APÊNDICE B 106
APÊNDICE C116

## 1 INTRODUÇÃO

Esta seção introduz as definições da tuberculose, da baciloscopia de campo claro automatizada e da fusão de imagens multifocais, além de expor os objetivos desta pesquisa.

#### 1.1 A tuberculose

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*. Tipicamente, a TB afeta os pulmões (TB pulmonar), mas formas extrapulmonares também podem ser observadas. A doença é transmitida quando o indivíduo com a TB pulmonar elimina bacilos pelo ar, por exemplo, ao tossir (OMS, 2016).

Pacientes com TB ativa apresentam sintomas gerais, tais como: febre, fadiga, falta de apetite e perda de peso. Aqueles com TB pulmonar podem apresentar tosse persistente e hemoptise (expectoração de sangue proveniente dos pulmões). No entanto, alguns doentes com TB ativa podem ser assintomáticos (PAI *et al*, 2016).

Segundo Pai *et al* (2016), a incidência de TB ativa (pulmonar e extrapulmonar) é distribuída de forma heterogênea pelo mundo, conforme mostra a Figura 1. Os países desenvolvidos apresentam as taxas mais baixas de TB ativa em contraste com os países em desenvolvimento que possuem as maiores taxas de TB. Por exemplo, a incidência da doença é 278 vezes maior na África do Sul (834 casos a cada 100.000 habitantes por ano) do que nos Estados Unidos da América (3 casos a cada 100.000 habitantes por ano).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2016), o Brasil, a Rússia, a Índia, a China e a África do Sul somam coletivamente 50% dos casos estimados para o mundo, sendo o Brasil 16º na classificação mundial em número absoluto de casos (MS, 2015). O estado do Amazonas, em 2014, obteve a maior taxa de incidência da doença em todo o país, alcançando a marca de 68,4 casos a cada 100.000 habitantes (MS, 2015).



Figura 1 – Incidência global da TB ativa (pulmonar e extrapulmonar). Países desenvolvidos – incluindo EUA, Canadá, Austrália e oeste da Europa – possuem as taxas mais baixas de TB ativa. Em contrapartida, os países em desenvolvimento possuem as maiores taxas de TB. FONTE: Pai *et al* (2016).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) (2016), os testes para diagnóstico da

TB incluem:

- Baciloscopia: amostras de escarro são examinadas em lâminas com o auxílio de um microscópio para verificar a presença de Bacilos Álcool-Ácido Resistentes (BAAR);
- Teste Rápido Molecular para a Tuberculose: o teste Xpert MTB/RIF; e
- Cultura: este é o padrão ouro atual. Os métodos de cultura requerem grande capacidade laboratorial, além de levarem até 12 semanas para o fornecimento dos resultados.

O Teste Rápido Molecular para a Tuberculose (TRM-TB) é a tecnologia mais avançada para detecção da doença. Porém, segundo o Ministério da Saúde (MS, 2015), a baciloscopia tradicional (em campo claro) permanecerá a ser amplamente utilizada no Brasil, mesmo com a implantação da Rede de Teste Rápido para Tuberculose (RTR-TB) – que utiliza o TRM-TB. A baciloscopia deverá utilizada para os casos em que o TRM-TB não pode ser usado, como amostras com quantidade insuficiente para processamento no *Xpert MTB/RIF* e, principalmente, para o controle de tratamento, pois como o equipamento detecta o DNA do bacilo, o teste pode ter resultado positivo por um prazo indefinido, não sendo possível acompanhar o avanço do tratamento.

A baciloscopia de campo claro é um método diagnóstico simples, de baixo custo, disponível em todo o mundo (OMS, 2011) e amplamente utilizado (MS, 2015). O objetivo do teste é o diagnóstico da TB ativa e o princípio do mesmo consiste na visualização e contagem dos BAAR em lâminas utilizando um microscópio de luz (PAI *et al*, 2016).

A leitura das lâminas, na baciloscopia de campo claro, ocorre em campos microscópicos como o representado na Figura 2. Na coloração pelo método de Ziehl-Neelsen ou pelo método de Kinyoun, que utilizam o corante fucsina, e empregando uma objetiva de aumento de 100x, os espécimes de interesse (BAAR) se apresentam como bastonetes avermelhados e podem se apresentar isolados, aos pares ou em grupos, em um fundo azulado não uniforme (Figura 3).

A leitura de uma lâmina é feita em até 100 campos microscópicos e o resultado do diagnóstico depende da quantidade de BAAR presentes por campo. Os critérios utilizados para prover este resultado podem ser vistos na Figura 4. O diagnóstico "Positivo +++" representa o nível de infecção mais grave e o diagnóstico "Negativo" representa a ausência de BAAR em 100 campos (MOÇAMBIQUE, 2012).

Atualmente, mesmo com métodos adequados de diagnóstico e esquemas de tratamento com drogas específicas, capazes de curar a maior parte dos casos, a TB ainda persiste como uma das doenças transmissíveis mais mortais do mundo. De acordo com o Ministério da Saúde (2014), só no Brasil são aproximadamente 70 mil novos casos e cerca de 4,6 mil mortes a cada ano devido a doença. Segundo a OMS (2016), a TB foi uma das 10 maiores causas de morte em todo o mundo em 2015. Dado que a maioria das mortes por TB são evitáveis, o número de mortos pela doença ainda é elevado, sendo necessário acelerar os esforços para combatê-la.



Figura 2 - Representação de um campo microscópico ao se observar uma lâmina por meio de um microscópio de luz. Neste caso, a lâmina foi corada pelo método de Kinyoun, proporcionando aos BAAR uma coloração avermelhada. FONTE: COSTA *et al* (2014b).



Figura 3 - Formas de apresentação dos BAAR: (a) isolados, (b) aos pares ou (c) em grupos de três os mais bacilos.

#### 1.2 A baciloscopia de campo claro automatizada

Como mencionado anteriormente, a baciloscopia de campo claro é um método de diagnóstico simples, rápido, de baixo custo e amplamente disponível em todo o mundo. Porém, apresenta sensibilidade variável, cerca de 32-94% (PAI *et al*, 2016). A baciloscopia negativa em indivíduos com TB ativa está associada a maus resultados de tratamento, incluindo a morte, especialmente em áreas amplamente atingidas pela epidemia do HIV (STEINGART *et al* 2006).



Figura 4 – Ilustração da análise baciloscópica. O diagnóstico de TB depende da quantidade de BAAR por campo. O resultado mais grave é representado pelo diagnóstico "Positivo +++" que representa o maior grau de infecção. Em contrapartida, o diagnóstico "Negativo" sinaliza a ausência de BAAR em 100 campos. FONTE: MOÇAMBIQUE (2012).

Entre os fatores decorrentes da ação humana que afetam negativamente a sensibilidade da baciloscopia estão: falha técnica na análise e má interpretação dos resultados (MOÇAMBIQUE, 2012). Assim, a eficiência da baciloscopia é fortemente dependente da proficiência do profissional que a realiza (COSTA *et al*, 2014a).

Para superar o problema da alta variação da sensibilidade da baciloscopia de campo claro, uma alternativa é a automatização do processo de diagnóstico. Nesse contexto, a baciloscopia de campo claro automatizada vem sendo estudada e desenvolvida desde 2008 (COSTA *et al*, 2008; RAOF *et al*, 2008; SADAPHAL *et al*, 2008; SAHIDAN *et al*, 2008).

Os trabalhos desenvolvidos neste tema utilizam-se de imagens digitais de campos microscópicos. Na literatura, foram encontradas 42 publicações que discorrem sobre imagens de baciloscopia de campo claro nos seguintes temas: segmentação, detecção, classificação e quantificação de bacilos; realce de imagens; autofoco, *image stitching*; e construção de banco de dados específico. A Figura 5 apresenta um gráfico que representa a quantidade de artigos publicados por ano sobre o tema desde 2008 até o ano de 2016. Não foram encontrados trabalhos relacionados que tenham sido publicados no ano de 2013.

Atualmente, pesquisas em baciloscopia automatizada apresentam, em seus melhores resultados, o método de identificação de bacilos desenvolvido por Costa Filho *et al* (2015), com sensibilidade de 96,8% e taxa de erro de 3,38%.

Estes resultados são animadores. Entretanto, aplicações automatizadas em imagens microscópicas, como a baciloscopia de campo claro automatizada, enfrentam um grande problema, inerente a este tipo de imagem, que é o efeito borrado nas imagens adquiridas, afetando a precisão da segmentação de objetos e demais tarefas de análise das imagens (CASTTLEMAN, MERCHANT e WU, 2008).



Figura 5 - Número de artigos publicados por ano no período de 2008 a 2016, no tema de baciloscopia de campo claro automatizada. Em 2013 não foram encontrados artigos sobre o tema. Bases de dados pesquisadas: IEEE *xplore* e *WebofScience*.

O efeito borrado que prejudica o processo de detecção automática dos bacilos ocorre quando o BAAR tem espessura superior à profundidade de campo da lente objetiva do microscópio. Nesse caso, somente uma porção do espécime ficará em foco, enquanto outra porção se apresentará borrada.

Para capturar todos os BAAR completamente em foco, busca-se uma imagem de foco estendido. Para obtenção de uma imagem de foco estendido faz-se uso de técnicas de fusão de imagens utilizando uma série de imagens do mesmo campo em diferentes profundidades focais. (CASTTLEMAN, MERCHANT e WU, 2008).

# 1.3 A fusão de imagens multifocais e sua contribuição à baciloscopia de campo claro automatizada

A fusão de imagens multifocais pode ser definida como o processo de combinar as informações de um conjunto de duas ou mais imagens em uma única imagem em que todos os objetos são trazidos para um foco único (SONG *et al*, 2006). Em imagens microscópicas, geralmente os métodos exploram as imagens de diferentes profundidades focais adquiridas ao longo do eixo por onde a platina do microscópio se movimenta para cima e para baixo (eixo z) (CASTTLEMAN, MERCHANT e WU, 2008).

Apesar de existirem diversos métodos para fusão de imagens multifocais, estudos em percepção indicam que a melhor estratégia de fusão depende da aplicação para qual a estratégia é aplicada. Assim, o melhor método muda de aplicação para aplicação (RASSEN, WANG e SALAMA, 2015).

Até o momento, não foram encontrados na literatura trabalhos relacionados à fusão de imagens multifocais aplicados a imagens baciloscópicas de campo claro, exceto os resultantes da presente dissertação, os quais estão disponíveis no Apêndice D.

As imagens apresentadas nas Figuras 6(a) a 6(k) mostram exemplos de bacilos que poderiam ser evidenciados com a aplicação de uma técnica de fusão multifocal. As imagens são

de uma região específica contendo bacilos retirados em onze profundidades focais de um campo baciloscópico. A Figura 6(f) é uma região pertencente à imagem da profundidade mais em foco (definida pela a função de autofoco do *software* do microscópio utilizado para aquisição). Podese observar, no entanto, que os bacilos destacados estão mais nítidos na profundidade anterior, Figura 6(e). Ou seja, o fato de uma imagem apresentar o maior valor de métrica de autofoco não garante que todas as áreas da imagem apresentam o mesmo foco.

Dessa forma, com vistas a contribuir com o processo de desenvolvimento da baciloscopia automatizada, é que se propõe desenvolver métodos de fusão de imagens multifocais e aplicá-los a imagens baciloscópicas de campo claro de tal forma a suplantar o efeito borrado nas imagens adquiridas.



Figura 6 – Onze profundidades focais de uma região contendo bacilos: a região (f) foi retirada da profundidade cuja imagem estava mais em foco, no entanto os bacilos estão mais nítidos na profundidade anterior (e).

#### 1.4 Objetivos

O objetivo deste trabalho é, portanto, propor um método de fusão de imagens multifocais de baciloscopia de campo claro de forma a contribuir com o desenvolvimento da baciloscopia automatizada

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Avaliar se as métricas de qualidade disponíveis na literatura são adequadas para a avaliação de desempenho dos métodos de fusão com respeito a melhoria de foco e preservação de informações de cor e bordas;
- Avaliar, segundo métricas de qualidade apropriadas, o desempenho dos métodos de fusão de imagens multifocais em regiões de BAAR extraídas das imagens baciloscópicas de campo claro;
- Avaliar se a associação de técnicas de nitidez, ao método de fusão proposto contribui para a melhoria da qualidade da imagem fundida.

### 1.5 Organização do trabalho

Este trabalho está organizado da seguinte maneira:

- A seção 2 apresenta a Revisão Bibliográfica, expondo o estado da arte para o problema de fusão de imagens multifocais e métricas de qualidade;
- A seção 3 discorre a respeito da Fundamentação Teórica, esclarecendo os conceitos envolvidos no desenvolvimento do trabalho;
- A seção 4 expõe os Materiais e Métodos, mostrando os materiais utilizados, diagramas e os métodos para esta solução;
- A seção 5 discorre a respeito dos Resultados e Discussões, expondo as avaliações das imagens de BAAR resultantes de fusão;
- A seção 6 apresenta a Conclusão, evidenciando as contribuições deste trabalho, e também, propondo sugestões para trabalhos futuros;

No Apêndice A, encontram-se assuntos que apoiam os conceitos utilizados neste trabalho. O Apêndice B disponibiliza imagens originais de baciloscopia e de regiões de BAAR utilizadas no decorrer desta dissertação. O Apêndice C disponibiliza cópias de dois artigos produzidos como resultado deste trabalho:

- Artigo 1: "Fusão de Imagens Multifocais em Imagens Baciloscópicas de Campo Claro" apresentado no 7º Simpósio de Instrumentação e Imagens Médicas (SIIM) / 6º Simpósio de Processamento de Sinais da UNICAMP (SPS-UNICAMP'2015), realizado na cidade de Campinas, São Paulo, de 21 a 23 de outubro de 2015.
- Artigo 2: "Avaliação de Métodos de Fusão de Imagens Multifocais Aplicados a Imagens Baciloscópicas de Campo Claro Utilizadas no Diagnóstico da Tuberculose" apresentado no XXV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica (CBEB 2016), realizado na cidade de Foz do Iguaçu, Paraná, de 17 a 20 de outubro de 2016.

# 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Esta seção discorre a respeito do estado da arte para o problema de fusão de imagens multifocais e para as métricas de qualidade utilizadas.

### 2.1 Pesquisa bibliográfica

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas seguintes bases de dados literárias: *IEEE Xplore Digital Library, ScienceDirect, Web of Science,* através do Portal de periódicos CAPES/MEC. As palavras-chave utilizadas para busca foram: *"image fusion", multifocus* e *metrics.* 

Após leitura dos artigos provenientes da pesquisa inicial, foram selecionados os artigos mais relevantes. Posteriormente, utilizou-se os vocabulários indexados dos artigos mais relevantes para a realização de nova busca por artigos similares (com indexação semelhante).

Foram identificadas diversas técnicas de fusão de imagens multifocais, bem como as métricas utilizadas para a medida de qualidade dos resultados, ambas estão descritas nos tópicos a seguir. Ressalta-se que nenhuma das técnicas discutidas a seguir foram empregadas originalmente na obtenção de imagens de foco estendido em baciloscopia de campo claro.

### 2.2 Técnicas de fusão de imagens multifocais

Os métodos existentes na literatura podem ser classificados em dois grandes grupos, em função do domínio em qual trabalham:

- Métodos de fusão no domínio espacial e
- Métodos de fusão no domínio da frequência.

Os métodos que trabalham no domínio espacial geralmente são de baixa complexidade computacional e podem ser usados em aplicações de tempo real (LI, KWOK, e WANG, 2001). Além disso, a facilidade de uso os tornam bastante atrativos, por isso, muitos trabalhos desenvolvidos neste domínio vêm sendo publicados (PICCININI *et al*, 2012; LI, KWOK, e WANG, 2001; LI *et al*, 2013).

Os métodos que trabalham no domínio da frequência assumem a hipótese de que as imagens mais em foco contêm mais detalhes e, portanto, mais componentes de alta frequência. Apesar de serem computacionalmente mais complexos, geralmente superam os métodos que trabalham no domínio espacial (PICCININI *et al*, 2012). Dessa forma, diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos também no domínio da frequência (BUENO *et al*, 2005; TESSENS *et al*, 2007; SONG *et al*, 2006; LIU e YU, 2015; SHI e FANG, 2007; PANG, ZHU e GUO, 2012).

Abaixo são descritas as 9 técnicas elegidas para esta revisão bibliográfica, dentre as quais, 5 estão destacadas por meio de siglas (PMV, FRE, CSM, WGL e EMM) para utilização posterior neste trabalho.

**Fusão através da seleção do** *pixel* **de maior valor (PMV) -** Piccinini *et al* (2012) apresentaram uma técnica desenvolvida no domínio espacial para imagens em escala de cinza que utiliza a seleção da máxima derivada local no eixo z.

Dessa maneira, as imagens da pilha inicial são pré-processadas para a remoção de ruídos e realce de bordas através de um filtro de detecção de bordas seguido por um filtro de média. O próximo passo é a identificação das regiões em foco, através da seleção do *pixel* de maior intensidade no eixo z. Nesse passo é criado um mapa de profundidade que armazena, em cada localização, o número da fatia (no eixo z) cuja intensidade naquela localização corresponde ao maior valor. Filtra-se então o mapa de profundidade através de um filtro majoritário, com o intuito de promover a continuidade dos valores de *pixels* que são adjacentes. Dessa forma, a

imagem final é construída através do mapa de profundidade filtrado, copiando-se a intensidade do *pixel* da imagem cuja posição no eixo z é apontada pelo mapa.

Nas simulações do método, dez conjuntos de imagens em escala de cinza de diversos cenários foram utilizados, cada conjunto com oito imagens. As métricas utilizadas para análise pelos autores foram: *mean square error* (MSE), *signal to noise ratio* (SNR), uma métrica nomeada *universal quality index* (UQI) proposta por Wang e Bovik (2002), e a métrica proposta pelos próprios autores baseada na UQI e nomeada *average universal quality index* (AUQI). As Tabelas 1 e 2 apresentam os melhores valores apresentados pelos autores de acordo com cada métrica.

Tabela 1 - Melhores resultados para as métricas MSE, SNR, UQI e AUQI aplicadas aos 5 primeiros conjuntos de imagens. FONTE: Piccinini *et al* (2012).

Métrica	Conjunto 1	Conjunto 2	Conjunto 3	Conjunto 4	Conjunto 5
MSE	51	95	22	16	38
SNR	26,52	24,49	29,19	29,75	29,09
UQI	0,9945	0,9895	0,9974	0,9965	0,9922
AUQI	0,8822	0,6538	0,9220	0,9306	0,8250

Tabela 2 - Melhores resultados para a métrica AUQI aplicadas aos 5 últimos conjuntos de imagens (sem imagem de referência). FONTE: Piccinini *et al* (2012).

Métrica	Conjunto 6	Conjunto 7	Conjunto 8	Conjunto 9	Conjunto 10
AUQI	0,8996	0,8278	0,9410	0,9271	0,8524

O trabalho Piccinini *et al* (2012) proporciona entendimentos profundos a respeito do assunto, além disso, os autores disponibilizam os seus códigos online. Dessa forma, a comparação com outros métodos e a verificação das afirmações apontadas no trabalho foi facilitada.

**Fusão através do cálculo da frequência espacial (FRE) -** Li, Kwok e Wang (2001) propuseram uma técnica utilizando frequência espacial. Os autores enfatizaram que o método por eles proposto tem o intuito de ser simples e viável para aplicações em tempo real.

Nesta técnica, primeiramente, decompõe-se as imagens de entrada em blocos de tamanho M×N. A técnica de seleção de regiões em foco foi estabelecida através da seleção do bloco (no eixo z) que possui o maior valor de soma da frequência espacial mais um valor de limiar (caso não exista o maior valor, então é atribuído à imagem fundida um bloco com a média dos valores dos blocos de entrada). Após o processo de fusão, aplica-se um filtro majoritário.

Nos experimentos, a técnica foi aplicada a dois conjuntos de imagens em escala de cinza de diversos cenários, cada conjunto com apenas duas imagens. Para avaliação objetiva, os autores utilizaram a métrica *root mean square error* (RMSE). A Tabela 3 apresenta os melhores resultados de acordo com esta métrica.

Tabela 3 - Melhores resultados para a métrica RMSE aplicadas aos 2 conjuntos de imagens. FONTE: Li, Kwok e Wang (2001)

Métrica	Conjunto 1	Conjunto 2	
RMSE	0,4493	0,1862	

A técnica desenvolvida por Li, Kwok e Wang (2001) é simples, fácil de reproduzir e aplicável ao problema de imagens multifocais microscópicas. Entretanto, como os próprios autores afirmam, o tamanho dos blocos utilizados depende do conteúdo da imagem. O que requer um procedimento de escolha do tamanho dos blocos adaptativo ao conteúdo da imagem.

**Fusão baseada em regiões das imagens e frequência espacial -** Li *et al* (2013) argumentam em seu trabalho que os métodos para fusão de imagens no domínio espacial, como as técnicas baseadas na medida da intensidade dos *pixels* ou baseadas em métodos de blocos apresentam características indesejáveis como redução de contraste e efeitos de bloco. Segundo os autores, mesmo métodos no domínio da frequência podem ser afetados quando utilizam

técnicas baseadas em *pixels*, pois permanecem sensíveis a ruídos ou a erros no registro das imagens. Por isso, os autores propuseram um novo método para fusão baseado em regiões das imagens e frequência espacial. As regiões são obtidas por meio da segmentação das imagens, na pilha inicial, através de um método citado e nomeado pelos autores como *entropy rate superpixel segmentation method*. Após a segmentação, regiões em foco das imagens de entrada são selecionadas através do cálculo da frequência espacial de cada região.

Para os experimentos, os autores utilizaram três conjuntos de imagens em escala de cinza de cenários diversos, cada conjunto contendo apenas duas imagens. Os autores usaram as métricas  $Q^{AB/F}$  – métrica também divulgada na literatura como *edge information preservation* (EIP) (XYDEAS e PETROVIC, 2000; RASSEN, WANG e SALAMA, 2015) – e *mutual information* (MI). A Tabela 4 apresenta os melhores resultados das métricas para os conjuntos utilizados.

Tabela 4- Melhores resultados para as métricas EIP e MI aplicadas aos 3 conjuntos de imagens. FONTE: Li *et al* (2013)

Métrica	Conjunto 1	Conjunto 2	Conjunto 3
EIP	0,7198	0,7352	0,8740
MI	2,8549	2,9833	4,0958

Um dos problemas do método, que é enfatizado pelos próprios autores, é que o processo de segmentação consome bastante tempo computacional. É um método simples, porém, como o processo de segmentação não está descrito em detalhes no artigo, então a sua reprodução torna-se mais difícil.

**Fusão através da transformada de Fourier -** Bueno *et al* (2005) expuseram em seu trabalho uma nova metodologia para fusão de imagens multifocais microscópicas coloridas através da transformada de Fourier.

O primeiro passo descrito é a transformação das imagens de entrada do espaço de cor RGB para YCbCr. Segundo os autores, foi definido trabalhar com o espaço de cor YCbCr para que fosse possível separar as componentes de cor CbCr e a componente de intensidade Y com o objetivo de preservar a informação de cor da imagem mais em foco da pilha de imagens multifocais. A seguir, é aplicada a transformada de Fourier nas imagens, para que sejam selecionados os coeficientes com maior magnitude para fusão. Após isso, é aplicada a transformada de Fourier inversa e, por último, a imagem fundida, no espaço de cor YCbCr, é transformada para RGB.

Para os experimentos, os autores simularam o método com um conjunto de imagens microscópicas coloridas, sendo o conjunto composto de dezesseis imagens. Os autores utilizaram, para medida de qualidade, três métricas baseadas na métrica UQI (WANG e BOVIK 2002) e nomeadas pelos autores como Q, Q<sub>WT</sub> e Q<sub>E</sub>. A Tabela 5 apresenta os valores resultantes destas métricas para o método proposto sobre o conjunto avaliado.

Tabela 5- Melhores resultados para as métricas Q,  $Q_{WT} e Q_E$  aplicadas ao conjunto de imagens. FONTE: Bueno *et al* (2005)

Métrica	Conjunto 1
Q	0,9739
Qwt	0,9738
$Q_{\rm E}$	0,9292

Este trabalho apresenta uma complexidade mais elevada em relação aos métodos no domínio espacial, devido a utilização da transformada de Fourier. Ressalta-se, ainda, que os autores poderiam ter utilizado um número maior de conjuntos de campos microscópicos para comprovar a eficácia do método.

Utilização da Transformada *Curvelet* e seleção dos coeficientes com maiores valores absolutos (CSM) - Tessens *et al* (2007) apresentaram uma técnica baseada na transformada *curvelet* aplicada a imagens de microscopia. Os autores tomaram como motivação

o ganho da popularidade da transformada *curvelet* entre as análises multirresolução. A proposta é que a técnica explore a habilidade desta transformada em separar altas e baixas frequências do conteúdo das imagens.

No método, primeiramente, as imagens coloridas são convertidas para imagens em escala de cinza. O segundo passo, é a aplicação da transformada *curvelet* nas imagens. O terceiro passo é a seleção dos coeficientes: para os coeficientes de alta frequência, são selecionados simplesmente os valores de coeficientes com maior valor absoluto, para o caso dos coeficientes de baixa frequência, ao invés disso, é realizada a identificação de qual profundidade focal foi selecionada a maioria dos valores de coeficientes de alta frequência, e assim, esta profundidade focal é escolhida como a que possui o coeficiente de baixa frequência que está mais em foco (só há um coeficiente de baixa frequência para cada imagem, ou seja, para cada profundidade focal), dessa forma, o coeficiente de baixa frequência desta profundidade é atribuído à composição dos coeficientes da imagem fundida. Para verificação da consistência da fusão, os autores estabeleceram um pós-processamento nomeado *reassignment*.

Nos experimentos, os autores utilizaram dois conjuntos de imagens em escala de cinza e mais quatro conjuntos de imagens coloridas de cenários diversos, cada conjunto com três imagens. Além destes conjuntos, os autores usaram mais um conjunto de quinze imagens de microscopia. A métrica utilizada neste trabalho foi *peak signal noise rate* (PSNR). A Tabela 6 apresenta os melhores resultados obtidos segundo esta métrica.

Tabela 6 - Melhores resultados para a métrica PSNR aplicada aos conjuntos de imagens. FONTE: Tessens *et al* (2007)

Métrica	Conjunto 1	Conjunto 2	Conjunto 3	Conjunto 4	Conjunto 1	Conjunto 2
PSNR	65,82 dB	63,92 dB	54,79 dB	41,27 dB	44,18 dB	43,14 dB

Este trabalho é uma excelente contribuição para o estado da arte para o problema de fusão de imagens multifocais, ao introduzir a transformada *curvelet*. Além disso, os códigos do desenvolvimento e das funções estão disponíveis *online*, o que facilita sua reprodução. Entretanto, o desempenho relatado pelos autores é suportado pelo uso de uma única métrica de qualidade, diferentemente dos outros artigos analisados, necessitando de mais análise.

**Combinação dos coeficientes** *wavelet* **com o gradiente local (WGL)** - Song *et al* (2006) utilizaram a transformada *wavelet* discreta (DWT – do inglês *discrete wavelet transform*) para aplicar uma técnica de fusão a imagens de microscopia de campo claro.

O primeiro passo do método é a aplicação da DWT às imagens da pilha inicial. O segundo passo é a seleção dos coeficientes em foco: calcula-se o nível de atividade de cada *pixel* dos coeficientes *wavelet* e seleciona-se os de maiores atividades. Para verificação, utiliza-se, após a seleção dos coeficientes, um método chamado *window-based consistency verification*. Em seguida, aplica-se a transformada *wavelet* discreta inversa (IDWT - do inglês *inversed discrete wavelet transform*).

Apenas um conjunto, contendo duas imagens escala de cinza, foi utilizado nos experimentos para análise com as métricas *root mean square* (RMS) e PSNR. Os autores encontraram a família Daubechies com função base Db4 e 5 níveis de decomposição, como os melhores parâmetros para a DWT. A Tabela 7 apresenta os melhores resultados encontrados pelos autores.

Tabela 7 - Melhores resultados para as mét	icas RMS e PSNR aplicadas aos conjuntos de imagens.
FONTE: Song <i>et al</i> (2006)	

Métrica	Conjunto 1
RMS	1,6134
PSNR	44,0101 dB

A descrição da técnica proposta por Song *et al* (2006) pode ser reproduzida pela grande riqueza de detalhes que os autores dão a respeito do método. Todavia, a referência que eles utilizam para explicar o pós-processamento (verificação) não é válida, uma vez que não possui o conteúdo que eles indicam, o que enfraquece as informações. Além disso, a quantidade de conjuntos para validação é muito pequena.

Aplicação da Transformada *Wavelet* Estacionária e seleção dos coeficientes máximos ou mínimos (EMM) - Liu e Yu (2015) alegaram em seu trabalho que a maioria dos trabalhos sobre fusão de imagens assumem que as imagens de entrada são perfeitamente alinhadas. Entretanto, afirmaram os autores, isso não ocorre em muitas situações práticas. Por exemplo, imperfeições mecânicas no microscópio podem introduzir deslocamentos no processo de ajuste de foco. Assim, os autores apresentaram um novo método para fusão de imagens multifocais para imagens com transformações geométricas.

O ponto principal do trabalho é o pré-processamento das imagens, que consiste em aplicar um processo de registro na pilha de imagens de entrada. Para efetuar o registro, primeiramente, escolhe-se uma imagem de referência da pilha; esta imagem de referência é a que possui a menor diferença em relação à todas as imagens da pilha; então, efetua-se o registro das imagens. A seguir, realiza-se a fusão das imagens: aplica-se a transformada *wavelet* estacionária (SWT - do inglês *stationary wavelet transform*), utilizando a função base *sym5*, e realiza-se a seleção dos coeficientes de valor máximo, para o caso dos coeficientes de detalhes, e do valor mínimo, para o caso dos coeficientes de aproximação. Após a fusão, aplica-se a transformada *wavelet transform*).

Nas simulações, foram usados quatro conjuntos de imagens coloridas diversas, cada conjunto contendo de 9 a 13 imagens. Para a análise da fusão, não foi utilizada nenhuma métrica, apenas análise visual dos resultados, análise da diferença das imagens fundidas em

relação à imagem de referência e o *mesh* da diferença das imagens. O trabalho é de fácil reprodução. Os autores poderiam ter introduzido alguma métrica de qualidade para validar os resultados. Porém, a utilização de registro de imagens é um ponto positivo do trabalho.

**Fusão baseada no espaço de cor HSI e na SWT -** Shi e Fang (2007) desenvolveram uma técnica para imagens coloridas baseada no espaço de cor HSI (*hue-saturation- intensity*) e na SWT.

O método inicia com a transformação das imagens RGB para o espaço de cor HSI. Após isso, aplica-se a SWT às imagens, a função base utilizada é a *sym4*. Os coeficientes são selecionados através da escolha dos coeficientes com maior nível de atividade. O nível de atividade de cada coeficiente é calculado por meio de equações matemáticas. Em seguida, um filtro majoritário é aplicado. A técnica finaliza com a aplicação da ISWT.

Apenas um conjunto de imagens coloridas foi utilizado para simulação, com duas imagens na pilha. As métricas utilizadas foram *image clarity* (IC), *spatial frequency* (SF), *correlation coefficient* (CC), RMSE, MI, *average error* (AE) e PSNR. A Tabela 8 apresenta os melhores valores apresentados por estas métricas.

Tabela 8 - Melhores resultados para as métricas IC, SF, CC, RMSE, MI, AE e PSNR aplicadas aos conjuntos de imagens. FONTE: Shi e Fang (2007)

Métrica	Conjunto 1
IC	0,1491
SF	0,0661
CC	0,9994
RMSE	0,0063
MI	4,6151
AE	6,3503e <sup>-4</sup>
PSNR	92,1084 dB
Uma crítica a este trabalho, é que as afirmações dos autores são questionáveis devido ao conjunto limitado utilizado para as simulações. O trabalho poderia se beneficiar ao realizar simulações com mais conjuntos de imagens e mais imagens por conjunto.

Aplicação da Transformada *Wavelet* Quaternião e seleção dos coeficientes máximos ou mínimos - Pang, Zhu e Guo (2012) afirmaram que poucos estudos desenvolvem métodos utilizando imagens coloridas. Dessa forma, eles introduziram um método para este tipo de imagem baseado na transformada *wavelet* quaternião (QWT - do inglês *quaternion wavelet transform*).

O primeiro passo é a transformação de cada imagem de entrada para a representação quaternião. O segundo passo é o emprego da QWT. O terceiro, é a aplicação da regra de seleção dos coeficientes em foco: seleção do valor máximo para os coeficientes de detalhes e regra da seleção do valor mínimo para os coeficientes de aproximação. Por fim, aplica-se a transformada *wavelet* quaternião inversa (IQWT - do inglês *inversed quaternion wavelet transform*).

As simulações foram realizadas em dois conjuntos de imagens coloridas diversas, cada conjunto com apenas duas imagens. Os autores utilizaram as métricas *image sharpness metric* (ISM) e *image contrast metric* (ICM). A Tabela 9 apresenta os valores para as métricas ao utilizar este método.

Tabela 9- Melhores resultados para as métricas ISM e ICM aplicadas ao conjunto de imagens. FONTE: Pang, Zhu e Guo (2012)

Métrica	Conjunto 1
ISM	52,7461
ICM	0,4631

A utilização da QWT neste trabalho é interessante e contribui significativamente para o estado da arte. Porém a reprodução deste método não é muito fácil, devido a utilização desta

transformada pouco disseminada. Os autores poderiam realizar simulações com mais conjuntos de imagens e mais imagens por conjunto para validar a eficiência do método.

Diferentes técnicas de fusão de imagens multifocais foram revisadas neste tópico. Foram colocados em evidência, principalmente, as técnicas de seleção para as regiões em foco, os conjuntos de imagens utilizados para simulação e as métricas utilizadas em cada trabalho. As Tabelas 10 e 11 apresentam um resumo dos artigos citados.

		Materiais								
Base de Dados	Referência	Tipo de Imagem	Nº <sup>.</sup> de Conj.	N <sup>o.</sup> de Imagens /Conj.	Pré- Processamento	Técnica de Seleção de Regiões em Foco	Pós- Processamento	Métricas	Imagem de Ref.	
Portal de periódicos CAPES/MEC	Piccinini <i>et al</i> (2012)	Escala de cinza	10	8	Filtro de Prewitt seguido por um filtro de média	Seleção da máxima derivada local	Filtro majoritário	MSE, SNR, UQI, AUQI	Sim para: MSE, SNR e UQI Não para: AUQI	
ScienceDirect	Li, Kwok e Wang (2001)	Escala de cinza	2	2	Divisão das imagens em blocos M×N	Maior frequência espacial de um bloco	Filtro majoritário nos blocos	RMSE	Sim	
IEEE Xplore Digital Library	Li <i>et al</i> (2013)	Escala de cinza	3	2	Segmentação das imagens em regiões	Maior valor da frequência espacial de uma região	-	EIP e MI	Os autores não deixam claro esta questão	

Tabela 10 – Resumo dos artigos abordados na revisão de literatura para técnicas de fusão de imagens multifocais no domínio espacial

		Materiais							_	
Base de Dados	Referência	Tipo de Imagem	N <sup>o.</sup> de Conj.	N <sup>o.</sup> de Imagens /Conj.	Pré- Processamento	Transformada	Técnica de Seleção de Regiões em Foco	Pós- Processamento	Métricas	Imagem de Ref.
Portal de periódicos CAPES/MEC	Bueno <i>et al</i> (2005)	RGB	1	16	Mudança para o espaço de cor YCbCr	Fourier.	Seleção dos coeficientes com maior magnitude	Retorno ao espaço de cor RGB	Q, Q <sub>WT</sub> e Q <sub>E</sub>	Não
IEEE Xplore Digital Library	Tessens <i>et al</i> (2007)	Escala de cinza e RGB	6	3	Transformação das imagens RGB para escala de cinza	Curvelet.	*Coef. de AF: maior valor absoluto de todas as profundidades **Coef. de BF: mesma profundidade de onde ocorreram a maioria dos coef. de AF	Reassignment	PSNR	Sim
IEEE Xplore Digital Library	Song <i>et al</i> , (2006)	Escala de cinza	1	2	Filtragem através de gradientes 4- direcionais	DWT	Maior nível de atividade de cada <i>pixel</i> dos coeficientes <i>wavelet</i>	Window-based consistency verification	RMS e PSNR	Sim
ScienceDirect	Liu e Yu (2015)	RGB	4	9 a 13	Registro das imagens de entrada	SWT	Seleção dos coeficientes de valor máximo para os coeficientes de detalhes e do valor mínimo para os coeficientes de aproximação	Nenhum	Análise subjetiva visual	-
IEEE Xplore Digital Library	Shi e Fang (2007)	RGB	1	2	Mudança para o espaço de cor HSI	SWT	Maior nível de atividade de cada <i>pixel</i> dos coeficientes <i>wavelet</i>	Filtro majoritário	IC, SF, CC, RMSE, MI, AE e PSNR	Sim para: CC, RMSE, MI, AE e PSNR Não para: IC e SF

Tabela 11 - Resumo dos artigos abordados na revisão de literatura para técnicas de fusão de imagens multifocais no domínio da frequência

		Materiais								
Base de Dados	Referência	Tipo de Imagem	N <sup>o.</sup> de Conj.	N <sup>o.</sup> de Imagens /Conj.	Pré- Processamento	Transformada	Técnica de Seleção de Regiões em Foco	Pós- Processamento	Métricas	Imagem de Ref.
IEEE Xplore Digital Library	Pang <i>et al</i> (2012)	RGB	1	2	Nenhum	QWT	Seleção do valor máximo para os coeficientes de detalhes e seleção do valor mínimo para os coeficientes de aproximação	Nenhum	ISM e ICM	Não

\*Coef. de AF: coeficientes de alta frequência \*Coef. de BF: coeficientes de baixa frequência

#### 2.3 Métricas de qualidade para fusão de imagens multifocais

Espera-se que a imagem resultante de um processo de fusão multifocal traga para um mesmo plano focal todos os objetos de interesse. De forma geral, a quantificação de quão eficiente um método de processamento de imagem é relativo, ou seja, pressupõe a existência de uma imagem "referência" para comparação. Entretanto, na fusão de imagens multifocais, nem sempre é possível dispor dessa imagem "ideal". Isso é especialmente verdade para imagens de microscopia. É mister, portanto a utilização de métricas de qualidade que não necessitem de uma imagem de referência como parâmetro. Após pesquisa bibliográfica, foram elencados trabalhos que utilizam medidas de qualidade (PICCININI *et al*, 2012; XYDEAS e PETROVIC, 2000; PETROVIC, PAVLOVIC e BONDZULIC, 2012; YUAN *et al*, 2011).

Piccinini *et al* (2012) propuseram a métrica AUQI (*average universal quality index*) baseada na métrica UQI (*universal quality index*) proposta por Wang e Bovik (2002) que demonstraram que a métrica UQI é um índice de representação da qualidade da imagem que se assemelha à percepção visual humana. Esta métrica tem a habilidade de mensurar distorções estruturais (BUENO *et al*, 2005). A UQI é definida como:

$$UQI(R,F) = \left(\frac{\sigma_{RF}}{\sigma_R \sigma_F}\right) \left(\frac{2\bar{x}_R \bar{x}_F}{\bar{x}_R^2 + \bar{x}_F^2}\right) \left(\frac{2\sigma_R \sigma_F}{\sigma_R^2 + \sigma_F^2}\right)$$
(2-1)

Sendo *R* uma imagem de referência "ideal" e F a imagem resultante do processo de fusão,  $\bar{x}_R$ ,  $\bar{x}_F$ ,  $\sigma_R$ ,  $\sigma_F$  e  $\sigma_{RF}$  são média, desvio-padrão e covariância das imagens *R* e *F*, respectivamente. Entretanto, como esta métrica requer a utilização de uma imagem de referência, não se adequa a imagens multifocais de microscopia. Para superar este problema, a métrica AUQI foi proposta como uma extensão da métrica UQI, utilizando as imagens multifocais da pilha no lugar de uma imagem de referência. A métrica AUQI é descrita a seguir:

$$AUQI(I_1, ..., I_Z, F) = \frac{1}{Z} \sum_{n=1}^{Z} UQI(I_n, F)$$
(2-2)

em que *Z*, é o número de fatias (imagens) de diferentes profundidades focais. Nesta métrica, quanto menor o valor, melhor é a qualidade da imagem.

Xydeas e Petrovic (2000) apresentaram a métrica EIP que mede a quantidade de informações de bordas que é transferida das imagens de entrada para a imagem fundida. A métrica é definida como a seguir.

Considere duas imagens,  $I_1 \in I_2$  (esta métrica pode se estender facilmente para entradas de mais de duas imagens) e uma imagem resultante da fusão, *F*. Um operador de Sobel é aplicado para produzir o *edge strength* g(m, n) e a orientação  $\alpha(m, n)$  para cada *pixel*, sendo  $1 \le n \le N$  e  $1 \le m \le M$ . Então, para uma imagem de entrada  $I_1$ :

$$g_{I_1}(m,n) = \sqrt{s_{I_1}^{\chi}(n,m)^2 + s_{I_1}^{\gamma}(n,m)^2}$$
(2-3)

$$\alpha_{l_1}(m,n) = \tan^{-1} \left( \frac{s_{l_1}^{\mathcal{Y}}(n,m)}{s_{l_1}^{\mathcal{X}}(n,m)} \right)$$
(2-4)

em que  $s_{I_1}^x(n,m)$  e  $s_{I_1}^y(n,m)$  são as saídas dos *templates* de Sobel horizontal e vertical centrados no *pixel*  $p_{I_1}(m,n)$ , convoluído com os pixels correspondentes da imagem  $I_I$ .

Os valores relativos  $G^{I_1F}(m,n)$  e  $A^{I_1F}(m,n)$  de uma imagem  $I_l$  com respeito a F são formados por:

$$G^{I_1F}(m,n) = \begin{cases} \frac{g_F(m,n)}{g_{I_1}(m,n)} & \text{se } g_{I_1}(m,n) > g_F(m,n) \\ \frac{g_{I_1}(m,n)}{g_F(m,n)} & \text{caso contrário} \end{cases}$$
(2-5)

$$A^{I_1F}(m,n) = 1 - \frac{|\alpha_{I_1}(m,n) - \alpha_F(m,n)|}{\pi/2}$$
(2-6)

42

Estes valores são utilizados para derivar a preservação de borda e orientação:

$$Q_g^{I_1F}(m,n) = \frac{\Gamma_g}{1 + e^{k_g(G^{I_1F}(m,n) - \sigma_g)}}$$
(2-7)

$$Q_{\alpha}^{I_1F}(m,n) = \frac{\Gamma_{\alpha}}{1 + e^{k_{\alpha}(A^{I_1F}(m,n) - \sigma_{\alpha})}}$$
(2-8)

 $Q_g^{I_1F}(m,n) \in Q_{\alpha}^{I_1F}(m,n)$  são modelos de percepção de perda de informações em F, em termos de quão bem os valores de bordas e orientação do *pixel* p(m,n) em  $I_1$  estão representados na imagem fundida. As constantes  $\Gamma_g, k_g, \sigma_g \in \Gamma_{\alpha}, k_{\alpha}, \sigma_{\alpha}$  determinam a exata forma das funções sigmoides usadas para formar os valores de preservação de orientação e bordas. As informações de preservação de bordas são definidas como:

$$Q^{I_1F}(m,n) = Q_g^{I_1F}(m,n) + Q_\alpha^{I_1F}(m,n)$$
(2-9)

em que  $0 \le Q^{I_1F}(m,n) \le 1$ . O valor 0 corresponde à completa perda de informação no local (m,n), no processo de transferência de  $I_1$  para F. O valor 1 indica uma fusão de  $I_1$  para F sem perda de informação.

Para um processo de fusão que opera nas imagens  $I_1$  e  $I_2$  (de tamanho M×N) e produz a imagem *F*, ao calcular  $Q^{I_1F}(m,n)$  e  $Q^{I_2F}(m,n)$  pode-se derivar uma métrica de desempenho normalizada, EIP =  $Q^{I_1I_2/F}$ , a partir da equação (2-10):

$$EIP = Q^{I_1 I_2/F} = \frac{\sum_{m=1}^{M} \sum_{n=1}^{N} Q^{I_1 F}(m,n) w^{I_1}(m,n) + Q^{I_2 F}(m,n) w^{I_2}(m,n)}{\sum_{m=1}^{M} \sum_{n=1}^{N} (w^{I_1}(m,n) + w^{I_2}(m,n))}$$
(2-10)

 $Q^{I_1F}(m,n) \in Q^{I_2F}(m,n)$  são as informações de preservação de bordas em F em relação às imagens  $I_l \in I_2$  respectivamente, para as quais são definidos os pesos  $w^{I_1}(m,n) \in w^{I_2}(m,n)$ . Os valores possíveis para  $Q^{I_1I_2/F}$  estão no intervalo entre 0 e 1, sendo o valor 0 atribuído à completa perda de informações de bordas e 1 à total transferência de informações das imagens originais à imagem F. Os pesos  $w^{I_1}(m,n) \in w^{I_2}(m,n)$  são iguais a  $w^{I_1}(m,n) = [g_{I_1}(m,n)]^L$  $e w^{I_2}(m,n) = [g_{I_2}(m,n)]^L$ , sendo L uma constante.

Experimentalmente, os valores definidos para as constantes utilizadas para calcular a EIP são definidos como na Tabela 2:

Constante	Valor			
L	1			
$\Gamma_{g}$	0,9994			
$k_g$	-15			
$\sigma_g$	0,5			
Γ <sub>α</sub>	0,9879			
$k_{lpha}$	-22			
$\sigma_{lpha}$	0,8			

Tabela 12 - Constantes definidas para cálculo da métrica EIP

As métricas AUQI e EIP foram desenvolvidas para medir a qualidade de fusão de imagens em escala de cinza.

Petrovic, Pavlovic e Bondzulic (2012) propuseram duas métricas que estendem a métrica EIP para trabalhar na medição da fusão de imagens coloridas. A primeira delas denomina-se *multichanel*  $Q^{AB/F}$  – renomeada para *multichanel edge information preservation* MEIP neste trabalho – e a segunda chama-se *colour*  $Q^{AB/F}$  – renomeada neste trabalho para *colour edge information preservation* CEIP.

A métrica MEIP estima a preservação de cores das imagens de entrada para a imagem fundida, além de medir a preservação de estruturas. Esta métrica é definida como se segue:

$$MEIP = k_R Q_R^{I_{1R}I_{2R}/F_R} + k_G Q_G^{I_{1G}I_{2G}/F_G} + k_B Q_B^{I_{1B}I_{2B}/F_B}$$
(2-11)

Na Equação (2-11), os valores  $Q_R^{l_{1R}l_{2R}/F_R}$ ,  $Q_G^{l_{1G}l_{2G}/F_G}$ ,  $Q_B^{l_{1B}l_{2B}/F_B}$ , representam a aplicação da métrica EIP aos componentes R, G e B, respectivamente, das imagens de entrada e da imagem fundida. Os pesos  $k_R$ ,  $k_G$ ,  $k_B$  atribuem ao cálculo uma importância na preservação de certas cores. Por exemplo, no visual de imagens de paisagens verdes, pode-se dar maior importância à preservação do canal G (*green*). Experimentalmente, os autores encontraram valores para estes pesos de acordo com a resposta humana aos diferentes espectros dos canais:  $[k_R, k_G, k_B] = [0,3, 0, 59, 0, 11].$ 

Para o cálculo da métrica CEIP, inicialmente separa-se as informações de intensidade e de cromaticidade das imagens, transformando as imagens em RGB para HSV. A componente H representa a tonalidade da imagem, S representa a saturação da cor e V representa a intensidade. Os dois espaços dimensionais H e S são, em essência, um sistema de coordenada polar ( $\theta, \rho$ ), onde H representa o ângulo de rotação  $\theta$  em [0,  $2\pi$ ] e S é a distância da origem  $\rho$  no intervalo [0, 1]. Pode-se calcular a magnitude como uma simples mudança de valor de cromaticidade:

$$\Delta_{C}^{I_{1}F} = 1 - \frac{1}{2} \left\| \overline{(\rho^{F}, \theta^{F})} - \overline{(\rho^{I_{1}}, \theta^{I_{1}})} \right\|$$
(2-12)

A medida de preservação de cromaticidade em cada pixel é dada por:

$$Q_{c}^{l_{1}F}(m,n) = \frac{\Gamma_{c}}{1 + e^{k_{c}(\Delta_{c}^{l_{1}F}(m,n) - \sigma_{c})}}$$
(2-13)

Nos experimentos, os autores definiram que  $[k_c, \sigma_c] = [15, 0, 7]$ . A qualidade de preservação de cromaticidade é então definida como:

$$Q_{wc}^{I_1F} = \frac{\sum_{\forall m,n} Q_c^{I_1F}(m,n)w_c(m,n)}{\sum_{\forall m,n} w_c(m,n)}$$
(2-14)

Sendo a maior saturação, entre  $(S^{I_1}(m, n) e (S^F(m, n), utilizada para estabelecer o valor de <math>w_c(m, n)$ :

$$w_c(m,n) = \max(S^{I_1}(m,n), S^F(m,n))$$
(2-15)

Assim, a métrica CEIP é dada por:

$$CEIP = 0.9 \cdot Q^{I_1 I_2/F} + +0.1 \cdot Q^{I_1 F}_{wc}$$
(2-16)

Yuan *et al* (2011) expuseram duas métricas, uma para imagens em escala de cinza e outra para imagens coloridas nomeadas ISM e ICM, respectivamente. A métrica ISM indica a nitidez dos detalhes e das informações de bordas e é definida por:

$$ISM = \frac{1}{M_{XN}} \sum [G_x^2 + G_y^2]^{1/2}$$
(2-17)

em que  $G_x$  e  $G_y$  são os operadores de Sobel aplicados na imagem fundida. A métrica ICM indica o contraste e é definida por:

$$ICM = (0.5 \cdot C_g^2 + 0.5 \cdot C_c^2)^{1/2}$$
(2-18)

em que  $C_g$  e  $C_c$  são as medidas de contraste na imagem em escala de cinza e contraste na imagem colorida, respectivamente (YUAN *et al* 2011).

Para ambas as métricas ISM e ICM, o melhor desempenho é medido pelo maior resultado obtido através das métricas.

Diferentes métricas para fusão de imagens multifocais foram revisadas neste tópico. Três métricas revisadas foram desenvolvidas para imagens em escala de cinza e três para imagens coloridas. A Tabela 13 apresenta um resumo dos artigos citados.

Base de Dados	Referência	Métrica	Característica	Tipo de imagem	Indicação de Melhor Qualidade
IEEE Xplore Digital Library	IEEE Xplore Digital Library Xydeas e Petrovic, 2000 (17)		Mede a quantidade de informações de bordas que é transferida das imagens de entrada para a imagem fundida	Escala de cinza	Maior valor
Portal de periódicos	le os Yuan <i>et al</i> , 2011(19)		Indica a nitidez dos detalhes e das informações de bordas	Escala de cinza	Maior valor
CAPES/MEC		ICM	Indica o contraste	Colorida	Maior valor
Portal de periódicos CAPES/MEC	Piccinini <i>et al</i> , 2012a (6)	AUQI	Habilidade de mensurar distorções estruturais	Escala de cinza	Menor valor
IEEE Xplore Digital Library	Petrovic <i>et al</i> , 2012 (18)	MEIP	Estima a preservação de cores das imagens de entrada para a imagem fundida, além de medir a preservação de estruturas	Colorida	Maior valor
		CEIP	Idem a MEIP	Colorida	Maior valor

Tabela 13 - Resumo dos artigos abordados na revisão de literatura para métricas para fusão de imagens multifocais

# 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os conceitos básicos para o desenvolvimento dos métodos de fusão de imagens propostos neste trabalho são apresentados nesta seção. Estes conceitos discorrem sobre imagens microscópicas em diferentes profundidades focais (multifocais) e sobre a transformada *wavelet* estacionária.

#### 3.1 Imagens microscópicas em diferentes profundidades focais (multifocais)

Nos dias de hoje, mais do que nunca, as imagens produzidas por um microscópio são convertidas em imagens digitais para armazenamento, processamento, análise e interpretação. O processamento de imagens digitais melhora a extração de informações a respeito de um espécime microscópico (CASTTLEMAN, MERCHANT e WU, 2008). O processo de aquisição de imagens microscópicas digitais segue o esquema mostrado na Figura 7.

No intuito de capturar todo o espécime em foco, deve-se adquirir uma série de imagens, em diferentes profundidades focais, ao longo do eixo z do microscópio, ao movimentar a platina do microscópio para cima e para baixo (CASTTLEMAN, MERCHANT e WU, 2008). Esta série de imagens adquiridas formam um conjunto de imagens (uma pilha de imagens), denominadas imagens microscópicas multifocais. A Figura 8 mostra um exemplo de uma pilha de imagens multifocais.

A fusão de imagens multifocais também é conhecida como *extensão da profundidade de campo* ou como *extensão da profundidade de foco*.



Figura 7 - Esquema do processo de aquisição de imagens microscópicas digitais. A platina do microscópio com a lâmina é posicionada de forma que os espécimes apareçam em foco na lente objetiva do microscópio. Uma câmera digital acoplada à lente objetiva realiza a captura da imagem digital.

FONTE: Adaptado de Casttleman, Merchant e Wu (2008)



Figura 8 - Pilha de imagens multifocais de um campo microscópico.

#### 3.2 Transformada Wavelet Estacionária

A transformada *wavelet* estacionária (SWT - do inglês *stationary wavelet transform*) é um tipo de transformada *wavelet* invariante ao deslocamento, ao passo que a transformada

*wavelet* discreta (DWT – do inglês *discrete wavelet transform*) é uma transformada variante ao deslocamento.

A DWT possui a seguinte limitação: quando o sinal de entrada recebe pequenos deslocamentos ocorrem grandes variações na distribuição de energia no domínio da transformada causando erros na reconstrução do sinal (LIU e YU, 2015).

A Figura 9 mostra o procedimento de decomposição da SWT e o procedimento de cálculo do filtro.

Uma diferença importante entre a SWT e DWT na decomposição do sinal em coeficientes é que na DWT, quando o sinal é dividido, os coeficientes de aproximação e de detalhes ficam com metade do número de amostras do nível anterior, enquanto que na SWT, o número de amostras nos coeficientes se mantém (SALVADOR, 2012).

A SWT é calculada através da média ponderada de algumas DWT com ligeiras alterações denominadas DWT dizimadas (ε-*decimated* DWT). Para que seja possível a recuperação do sinal original, a partir dos coeficientes de aproximação e de detalhes (coeficientes apresentados na Figura 9), é necessário calcular a transformada *wavelet* estacionária inversa (ISWT) a partir da IDWT (SALVADOR, 2012).

Diversas famílias *wavelet* estão disponíveis para processamento de sinais. A seleção da família *wavelet* apropriada é uma tarefa importante para a análise dos sinais (GANDHI, 2011). A Tabela 14 apresenta algumas famílias *wavelet* disponíveis atualmente.

A Figura 10 apresenta uma operação da SWT em uma imagem em escala de cinza de 512x512 *pixels*. Observa-se que o mapa dos coeficientes de aproximação é uma versão da imagem original, com a diferença que foram aplicados filtros passa-baixa ao longo das linhas e das colunas. Este mapa é utilizado como entrada (cA<sub>j</sub>) para o próximo nível de decomposição (nível 2) no banco de filtro da Figura 9(a). Os coeficientes resultantes na SWT possuem a mesma dimensão da imagem original, 512x512.



Figura 9 - Decomposição da SWT e o procedimento de cálculo do filtro: (a) Procedimento de decomposição, (b) Procedimento de cálculo do filtro. FONTE: Adaptado de Liu e Yu (2015).

TT 1 1 1 4	-	1 1	c a:	7	c ~	1 1.			~	
Tabela 14	- Exemr	nos de	tamilias	wavelet e	tuncoes	hase dis	noniveis	nara c	meracao	de sinais
I ubblu I I	LACIN	105 40	iummuo	marciel e	rungoos	ouse and	pomitors	puiu	peruçuo	de billaib.

Família <i>wavelet</i>	Funções base (wavelets disponíveis)	Características
BiorSplines	bior1.1, bior1.3, bior1.5, bior2.2, bior2.4, bior2.6, bior2.8, bior3.1, bior3.3, bior3.5, bior3.7, bior3.9, bior4.4, bior5.5, bior6.8,	Biortogonal
Coiflets	coif1, coif2, coif3, coif4, coif5	Ortogonal
Daubechies	db1, db2, db3, db4, db5, db6, db7, db8, db9, db10	Ortogonal
Symlets	sym2, sym3, sym4, sym5, sym6, sym7, sym8	Ortogonal



Figura 10 - Aplicação da SWT em uma imagem em escala de cinza e coeficientes resultantes. FONTE: Imagem original Gonzalez e Woods (2010).

# **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

Nesta seção são descritos os materiais e a metodologia utilizada no desenvolvimento de um método para fusão de imagens de baciloscopia de campo claro.

## 4.1 Delineamento da pesquisa

A proposta desta pesquisa se desenvolveu em três fases. O diagrama de blocos da Figura 11 apresenta as três fases da metodologia realizada.



Figura 11 - Diagrama de blocos que apresenta o delineamento metodológico da pesquisa e desenvolvimento realizados.

Na primeira fase realizou-se uma análise dos métodos de fusão de imagens presentes nas bases de dados literárias, bem como dos métodos de avaliação da qualidade de imagens. Resultados parciais dessa etapa foram apresentados na seção 2 desta dissertação. No entanto, esta avaliação não se restringiu a análise qualitativa dos métodos. Os mesmos foram implementados, testados e avaliados segundo métricas de desempenho estabelecidas na literatura.

Do conhecimento e *expertise* adquiridos na Fase 1, decorreram as novas concepções que visaram o aprimoramento das técnicas avaliadas e que constituem a Fase 2 da proposta. Por isso, o resultado e a análise de desempenho previstos na Fase 1 são apresentados nesta seção (de Materiais e Métodos), pois entendemos ser parte do processo da concepção previsto na Fase 2.

Na Fase 3 da metodologia, foi realizado um processo de otimização dos parâmetros de configuração do método proposto de melhor desempenho oriundo da Fase 2.

### 4.2 Materiais

Foram utilizadas imagens microscópicas de campo claro de esfregaços baciloscópicos. A utilização das amostras de secreção dos pacientes foi previamente aprovada, sem restrições, pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (protocolo 186/08).

As imagens baciloscópicas foram adquiridas em pilhas através de um microscópio Zeiss Axio Imager M2, objetiva de 100x (imersão), com o auxílio do *software* "ZEN 2 Pro". As lâminas utilizadas para captura foram coradas através do método de Kinyoun.

Para a aquisição das imagens em pilhas, foi utilizado o recurso de foco automático do *software* do microscópio para estabelecer e adquirir a imagem mais em foco (profundidade central) de um campo digital e, a partir desta, adquirir mais cinco imagens movendo-se a platina

do microscópio para cima e mais outras cinco imagens movendo-se a platina para baixo a partir da profundidade central, totalizando 11 imagens em uma pilha. A distância entre cada uma das imagens foi estabelecida em 0,52 micrometros.

A Figura 12 apresenta um exemplo de um campo digital baciloscópico e suas 11 imagens de fatias em diferentes profundidades focais. Ressalta-se que todas as imagens na Figura 12 possuem a mesma dimensão,  $1388 \times 1040$  *pixels*, e podem ser visualizadas no Apêndice B. A imagem 12(f) é imagem mais em foco (profundidade central  $\rightarrow$  fatia #6) e foi colocada em destaque. As demais imagens foram adquiridas em diferentes profundidades focais movendo-se a platina do microscópio ao longo do eixo z.

Para esta dissertação, foram utilizadas pilhas de imagens adquiridas de 328 campos digitais provenientes de 2 lâminas (164 campos para cada lâmina) com diagnóstico positivo +++. A escolha recaiu em lâminas que possuíam maior quantidade de regiões de interesse, os Bacilos Álcool-Ácido Resistentes (BAAR). Sendo 1 lâmina de fundo claro (baixo contraste com azul de metileno) e 1 lâmina de fundo escuro (alto contraste). Foi determinado a captura de 164 campos microscópicos digitais, pois esta quantidade equivale à área de 100 campos microscópicos observados pela objetiva de 100x de aumento na leitura manual.

Como cada campo digital foi construído com 11 fatias de diferentes profundidades focais, o total de imagens capturadas para utilização neste trabalho foi de: 3608 imagens *true color* de 1388×1040 *pixels*. A Tabela 15 traz um resumo destas informações.

Adicionalmente, a avaliação do desempenho dos métodos de fusão implementados foi realizada em sub-imagens extraídas das imagens de campos baciloscópicos adquiridas e fundidas. Isso se deve ao fato de que o que se deseja é otimizar o foco dos bacilos e não apenas da imagem como um todo. Esses conjuntos de sub-imagens foram obtidos segundo o procedimento mostrado na Figura 13.

Para o recorte das sub-imagens, todas as imagens capturadas por meio do microscópio foram analisadas por especialistas para uma busca visual dos bacilos presentes nas mesmas e o respectivo registro das posições de cada bacilo nas imagens, indicado por um ponto (x, y).



Figura 12 - Conjunto de 11 imagens em diferentes profundidades focais de um campo baciloscópico. As fatias (a) #1, (b) #2, (c) #3, (d) #4 e (e) #5 foram adquiridas em diferentes profundidades focais movendo-se a platina do microscópio para cima; a fatia (f) #6 é a profundidade mais em foco de acordo com a função de autofoco do microscópio utilizado; e as fatias (g) #7, (h) #8, (i) #9, (j) #10 e (k) fatia #11 são profundidade que foram adquiridas movendo-se a platina do microscópio para baixo a partir de #6.

Tabela 15 - Informa	ições a res	peito da	baciloscop	ia das lâminas	s utilizadas	e imagens	oriundas.
---------------------	-------------	----------	------------	----------------	--------------	-----------	-----------

Lâmina	Diagnóstico Nº de campos digitais (pilhas)		Fatias por campo (fatias/pilha)	Imagens	Total de Imagens
1	Positivo +++	164	11	1804	2609
2	Positivo +++	164	11	1804	3008

Com a informação da posição de cada bacilo, foi possível desenvolver um programa para recorte automático das regiões desses BAAR. A região de recorte foi configurada em 51x51 *pixels*, grande o suficiente em relação ao tamanho médio do retângulo envolvente de um bacilo. Utilizando este procedimento, extraiu-se, das 328 pilhas de imagens baciloscópicas de campo claro, um total de 2983 pilhas de imagens de BAAR. Na Figura 14 encontra-se um exemplo de uma pilha de BAAR extraída em 11 profundidades focais.



Figura 13 – Ilustração do processo de extração de sub-imagens de BAAR.



Figura 14 – Exemplo de uma pilha de BAAR.

#### 4.3 Fase 1: Métodos de fusão de imagens multifocais presentes na literatura

Com o objetivo de levantar esquemas de fusões e técnicas de seleção de regiões em foco eficientes para imagens baciloscópicas de campo claro, foram feitas implementações e análises com 5 das técnicas citadas na seção 2.2, quais sejam:

- 1. Fusão através da seleção do pixel de maior valor PMV (PICCININI et al, 2012);
- 2. Fusão através do cálculo da frequência espacial FRE (LI, KNOK e WANG, 2001);
- Utilização da Transformada *Curvelet* e seleção dos coeficientes com maiores valores absolutos – CSM (TESSENS *et al*, 2007);
- Combinação dos coeficientes *wavelet* com o gradiente local WGL (SONG *et al*, 2006); e
- Aplicação da Transformada Wavelet Estacionária e seleção dos coeficientes máximos ou mínimos – EMM (LIU e YU, 2015).

As referidas técnicas foram selecionadas em função da análise de desempenho e complexidade das mesmas, bem como de uma análise preliminar do potencial de aplicação das mesmas ao caso de imagens de baciloscopia de campo claro.

Os parâmetros de configuração utilizados foram definidos conforme estabelecidos pelos autores:

- Filtro de média de 15×15 e filtro majoritário de 5×5 para a técnica PMV;
- 8 níveis de decomposição para CSM;
- Função *wavelet* db4 com 2 níveis de decomposição em WGL e função *wavelet* sym5 com 2 níveis de decomposição para a técnica EMM.

Como comentado na seção 2.2, o pós-processamento (*window-based consistency verification*) indicado no trabalho de Song *et al* (2006) (técnica WGL) não pôde ser verificado pela referência por eles citada, por isso, foi desconsiderado na implementação da técnica.

Para a técnica FRE, onde é necessário definir o tamanho M×N dos blocos, foram feitas algumas considerações voltadas especialmente para o tipo de imagem utilizada. Optou-se por estabelecer o tamanho dos blocos de tal forma que sejam menores ou iguais ao tamanho médio do retângulo envolvente de um bacilo, para que dessa forma a técnica realize a fusão da maneira mais eficiente possível.

Foram amostrados 25 bacilos de diversas imagens para obter o tamanho médio do retângulo que envolve um bacilo. Os bacilos podem se apresentar nas imagens tanto na direção vertical, horizontal ou diagonal, por isso, buscou-se amostrar os bacilos em diversas direções para definir o tamanho médio do retângulo envolvente. Dessa forma, foi encontrado que os bacilos possuem, em média, um tamanho de retângulo envolvente de 23×22 *pixels* (aproximadamente o mesmo número de linhas e colunas).

Além da dimensão do triângulo envolvente dos bacilos, teve que ser considerado o tamanho das imagens (1388×1040 *pixels*), pois este deve ser divisível pelo tamanho M×N dos blocos. Dessa maneira, definiu-se blocos de tamanho 4×4. Os valores dos demais parâmetros foram utilizados os definidos pelos autores, quais sejam: filtro majoritário de 3×3 e limiar de

 $5 \times 10^{-4}$  (para utilização na soma que define o bloco que compõe a imagem fundida, vide seção 2.2).

Como o microscópio utilizado para captura também possui uma técnica de fusão de imagens multifocais proprietária, também foram realizadas simulações e análises com esta técnica de fusão presente no *software* "ZEN 2 Pro" para efeito de verificação da eficácia de processamento deste *software* e comparação com as demais técnicas. O método de fusão do "ZEN 2 Pro" é baseado em *wavelet*, a técnica de seleção de regiões em foco do *software* não é uma informação disponibilizada pelo fabricante.

#### 4.4 Fase 1: Métricas de qualidade

A quantificação da eficiência de um método de fusão de imagens multifocais não pode depender de uma imagem de "referência" ideal, visto que a mesma não está disponível, especialmente no caso de imagens microscópicas. É imprescindível, portanto a utilização de métricas de qualidade que não necessitem de uma imagem de referência como parâmetro. Considerando este fator, foi elencada e utilizada a métrica de qualidade *Multichanel Edge Information Preservation* (MEIP) (PETROVIC, PAVLOVIC e BONDZULIC, 2012), citada na seção 2.3.

A métrica MEIP foi escolhida devido a sua característica de fornecer informações relativas a preservação de bordas e preservação de cores. As informações preservadas são importantes indicadores da qualidade de fusão. Além disso, essa métrica é particularmente interessante pelo fato de que no processo de detecção automática de bacilos, geralmente, as informações de cores são exploradas (COSTA FILHO *et al*, 2015). Para esta métrica, é feito um cálculo de similaridade que envolve as informações das imagens na pilha utilizada para

fusão e as informações da respectiva imagem fundida. Quanto maior valor de resposta para esta métrica, melhor qualidade da imagem processada.

Adicionalmente, foi utilizada uma medida de foco eficiente para imagens baciloscópicas de campo claro, a Variância (KIMURA JUNIOR, COSTA e COSTA FILHO, 2010). Kimura, Costa e Costa Filho (2010) demostraram que a Variância é a melhor métrica de foco para imagens baciloscópicas de campo claro. Quanto maior o valor dessa métrica, mais focalizada a imagem se encontra. A Variância é descrita a seguir:

$$S^{2} = \frac{1}{MN} \sum_{m,n} (g(m,n) - \bar{g})^{2}$$
(4-1)

M e N são as dimensões da imagem, g(m,n) a intensidade de cada pixel e  $\bar{g}$  o nível de cinza médio de toda a imagem. A Variância não é uma medida de similaridade, portanto, seu cálculo leva em conta somente a imagem processada.

# 4.5 Fase 1: Implementação e análise de desempenho dos métodos de fusão de imagens multifocais presentes na literatura

As técnicas da literatura PMV, FRE, CSM, WGL e EMM foram aplicadas às 328 pilhas de imagens baciloscópicas de campo claro descritas na seção de Materiais (seção 4.2), resultando em 328 imagens fundidas para cada técnica.

As Figuras 15 e 16 apresentam a comparação dos valores resultantes para as métricas de qualidade Variância e MEIP, respectivamente, quando aplicadas às 2983 imagens fundidas de BAAR obtidas por meio de cada técnica: PMV, FRE, CSM, WGL, EMM e da fusão embutida no *software* "ZEN 2 Pro".

A Tabela 16 reúne a média e o desvio-padrão para os valores apresentados nos gráficos das Figuras 15 e 16, o *ranking* das técnicas e uma amostra de BAAR resultante para cada técnica (a pilha de BAAR que origina esta região é mostrada na Figura 14).

O ranqueamento considerou que a maior qualidade das imagens é representada pelos maiores valores médios de Variância e MEIP. Considerou-se também o desvio-padrão para determinar se um resultado é melhor que outo no caso de igualdade no valor das médias.

Na Tabela 16, pode-se observar que cada métrica produziu um *ranking* diferente. Para a Variância, a melhor técnica foi a FRE, seguida da métrica WGL, indicando que estas técnicas preservam a melhor qualidade de foco para a imagem de BAAR resultante. Todavia, verificase que FRE apresenta o desvio-padrão maior que todas as demais técnicas e através dessa análise, pode-se considerar que a técnica WGL tenha um desempenho mais regular na preservação do foco das imagens.



Figura 15 – Gráfico dos valores de Variância para as 2983 imagens de BAAR extraídos das imagens de baciloscopia de campo claro fundidas resultantes de cada técnica testada.



Figura 16 - Gráfico dos valores de MEIP para as 2983 imagens de BAAR extraídos das imagens de baciloscopia de campo claro fundidas resultantes de cada técnica testada.

Tabela 16 – Informações a respeito da média e desvio-padrão resultantes para as métricas de qualidade aplicadas às técnicas PMV, FRE, CSM, WGL, EMM e ZEN 2 Pro avaliando 2983 imagens de BAAR resultantes; ranqueamento das técnicas e apresentação de uma amostra de BAAR resultante para cada técnica.

		Variância				Amostro	
Método	Média	Desvio- padrão	Rank	Média	Desvio- padrão	Rank	de BAAR
PMV	119,1788	134,5472	4°	0,4411	0,0340	<b>2</b> °	
FRE	134,2065	150,9254	<b>1</b> °	0,4142	0,0500	4°	A
CSM	120,7226	142,4306	3°	0,4412	0,0410	<b>1</b> °	A.
WGL	130,7130	137,5534	<b>2</b> °	0,3713	0,0454	5°	A
EMM	86,9079	130,8006	6°	0,3552	0,0575	6°	1
ZEN 2 Pro	117,5485	138,9639	5°	0,4334	0,0417	3°	A

Para a métrica MEIP, a melhor técnica avaliada foi a CSM seguida da técnica PMV, apontando que estas técnicas são a que mais preservam as cores das imagens de entrada para a

imagem fundida, além de realizar boa preservação de estruturas das imagens originais. Sendo que a técnica CSM apresenta o desvio-padrão maior que a técnica PMV, podendo considerar também que a técnica PMV tenha um desempenho mais regular na preservação das cores e estruturas das imagens de entrada para a imagem fundida.

A técnica EMM e a técnica do *software* "ZEN 2 Pro" não se mostraram entre os melhores resultados em nenhum dos casos, sendo que a técnica EMM foi a de pior desempenho entre todas as demais técnicas analisadas. Assim, pode-se considerar que as técnicas PMV e WGL são as duas técnicas, entre as analisadas, que apresentam os resultados mais interessantes considerando os valores resultantes para as médias e desvios-padrões das métricas utilizadas.

#### 4.6 Fase 2: Desenvolvimento de novas propostas

A partir da análise dos métodos da literatura avaliados no item anterior, concebeu-se melhoramentos em duas das técnicas avaliadas, com vistas a aumentar o desempenho da fusão de imagens multifocais. Pelos motivos apresentados na seção anterior, as duas técnicas selecionadas foram: PMV e WGL. A Tabela 17 resume as características destas duas técnicas, conforme já apresentado anteriormente na seção 2.2. Essas duas técnicas têm em comum o pré-processamento através de um filtro derivativo de primeira ordem.

Técnica	Pré-Processamento	Domínio de Operação	Técnica de Seleção	Pós-	
		da Fusao	de Regiões em Foco	Processamento	
PMV	Filtro de Prewitt	Domínio espacial	Seleção da máxima	Filtro majoritário	
		-	derivada local	-	
	Filtragem através de		Maior nível de		
WCI	aradiantas	Domínio da frequência.	atividade de cada		
WGL	gradientes	Utilização da DWT	pixel dos coeficientes	-	
	4-directoliais		wavelet		

Tabela 17 - Características das técnicas PMV e WGL

Nome	Pré-Processamento	Domínio de Operação da Fusão	Técnica de Seleção de Regiões em Foco	Pós-Processamento
Método 1	Decomposição das imagens em componentes R, G e B; filtragem através de gradientes 4-direcionais	Domínio da frequência. Utilização da SWT	Maior nível de atividade de cada <i>pixel</i> dos coeficientes <i>wavelet</i>	Filtro majoritário; finalização com a reconstrução da imagem RGB
Método 2	Decomposição das imagens em componentes R, G e B; filtragem através de gradientes 4-direcionais seguido por um filtro de média	Domínio da frequência. Utilização da SWT	Maior nível de atividade de cada <i>pixel</i> dos coeficientes <i>wavelet</i>	Filtro majoritário; finalização com a reconstrução da imagem RGB
Método 3	Decomposição das imagens em componentes R, G e B; aplicação de filtro derivativo de Prewitt seguido por um filtro de média	Domínio da frequência. Utilização da SWT	Seleção da máxima derivada local	Filtro majoritário; finalização com a reconstrução da imagem RGB
Método 4	Decomposição das imagens em componentes R, G e B; filtragem através de gradientes 4-direcionais seguido por um filtro de média	Domínio da frequência. Utilização da SWT	Seleção da máxima derivada local	Filtro majoritário; finalização com a reconstrução da imagem RGB

Tabela 18 - Métodos propostos baseados na análise dos métodos implementados na Fase 1 (Tabela 17).

A técnica de seleção de regiões em foco dos métodos propostos 1 e 2 foi baseada na mesma técnica utilizada para WGL e a dos métodos 3 e 4 foi baseada na mesma utilizada para PMV. O nível de atividade utilizado nos métodos 1 e 2 é medido a partir do gradiente local de uma imagem G(I(m,n)), calculado a partir de operadores 4-direcionais (detalhados no Apêndice A), conforme a Equação 4-2 a seguir (Song *et al*, 2006):

$$A(I(m,n)) = G(I(m,n)) \cdot |I(m,n)|$$
(4-2)

O maior nível de atividade entre duas imagens (ou coeficientes)  $I_1 \in I_2$  é dado por:

$$I_{Saida}(m,n) = \begin{cases} I_1(m,n) & se \ A(I_1(m,n)) > A(I_2(m,n)) \\ I_2(m,n) & se \ A(I_1(m,n)) \le A(I_2(m,n)) \end{cases}$$
(4-3)

Em todos os métodos, o domínio da frequência foi escolhido para operacionalização da fusão, utilizando a Transformada *Wavelet*. Apesar de serem computacionalmente mais complexos, em algumas aplicações, os métodos que trabalham no domínio da frequência superam os métodos que trabalham no domínio espacial (PICCININI *et al*, 2012). Entretanto, ao invés da utilização da Transformada *Wavelet* Discreta (DWT, do inglês *Discrete Wavelet Transform*), optou-se por utilizar a Transformada *Wavelet* Estacionária (SWT, do inglês *Stationary Wavelet Transform*), devido à sua característica de ser invariante ao deslocamento (ao contrário da DWT), evitando erros na reconstrução do sinal, como elucidado na seção 3.2.

O pré-processamento e o pós-processamento de cada método foram construídos mesclando-se as características das técnicas PMV e WGL. As máscaras derivativas utilizadas na etapa de pré-processamento, 4-direcionais e Prewitt, estão descritas em maiores detalhes no Apêndice A deste trabalho.

O diagrama da Figura 17 apresenta o esquema básico de implementação dos métodos propostos. Como as imagens utilizadas são coloridas, optou-se por trabalhar os três canais de cores do espaço de cor RGB de forma individual.

Como o diagrama mostra, primeiramente realiza-se a decomposição das imagens nos três canais *R*, *G* e *B*, depois aplica-se a SWT aos canais, após isso filtra-se as imagens através de filtros derivativos de primeira ordem, então seleciona-se as regiões em foco das imagens compondo o mapa de profundidade e aplica-se filtro majoritário. Finaliza-se o processo aplicando-se a ISWT (Transformada *Wavelet* Estacionária Inversa) e reconstruindo a imagem RGB. Propôs-se operacionalizar nos três canais R. G e B devido a uma observação experimental

de que, desta forma, a qualidade da preservação de cores é maior do que se ao se processar a fusão apenas na imagem de intensidade.



Figura 17 - Esquema básico dos métodos de fusão propostos para imagens coloridas baseados no domínio da frequência e no espaço de cor RGB.

Os 4 métodos propostos nesta seção serão comparados juntamente com as técnicas da literatura para determinação do melhor método proposto para a realização da otimização dos parâmetros de configuração descrita na seção a seguir.

#### 4.7 Fase 3: Otimização do método proposto de melhor desempenho

Após determinar o método proposto de melhor desempenho dentre os 4 propostos, foi realizado a otimização dos parâmetros de configuração deste método. Para esse fim, os parâmetros foram alterados e testados em etapas.

Os primeiros parâmetros a serem experimentados foram os da SWT: família *wavelet*, função base e nível de decomposição. Após a determinação dos melhores parâmetros da SWT, ocorreu a busca do tamanho ideal da janela do filtro de média e por fim, da janela do filtro majoritário.

Devido ao tempo de processamento médio que os métodos de fusão requerem, optou-se por reduzir o total de pilhas de imagens para esta parametrização. Foram escolhidas 20 pilhas dentre as 328 pilhas de imagens baciloscópicas de campo claro descritas na seção de Materiais (seção 4.2). Levou-se em conta a quantidade de BAAR para a escolha dessas 20 pilhas. Dessa forma, foi possível extrair 628 pilhas de BAAR dessas 20 pilhas de imagens baciloscópicas de campo claro. Essa quantidade de pilhas de BAAR representa cerca de 21% do total de pilhas disponíveis nos materiais utilizados neste trabalho. Isso permitirá que os parâmetros sejam avaliados numa quantidade significativa de imagens sem que seja necessário um tempo de processamento tão elevado.

Após esta fase de parametrização para otimização do método proposto de melhor desempenho, este foi novamente avaliado com os métodos da literatura utilizando todas as 328 pilhas de imagens baciloscópicas de campo claro descritas na seção de Materiais.

#### 4.8 Fase 3: Pós-processamento adicional: Realce de nitidez

Com vistas a obter imagens onde o maior número possível de bacilos esteja em foco, foi proposto um pós-processamento adicional que consistiu na aplicação da técnica de realce de nitidez (Apêndice A) para realçar o foco das imagens resultantes do método de fusão proposto de melhor desempenho.

#### 4.9 Ambiente de Implementação

O desenvolvimento da metodologia proposta foi realizado no Laboratório de Processamento Digital de Imagens do Centro de Tecnologia Eletrônica e da Informação – CETELI – da Universidade Federal do Amazonas – UFAM.

A máquina utilizada para processamento possui as seguintes características:

• Marca e modelo: Dell Precision Tower 5810;

- Sistema operacional: Ubuntu 14.04.4 LTS, 64 bits;
- Processador: Intel® Xeon® CPU E5-1650 v3 @ 3.50GHz;
- Memória RAM: 128 GB;

O ambiente de desenvolvimento utilizado para programação foi o Matlab® (The MathWorks, Inc. Software) versão R2015a.

# **5 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Com o intuito de estabelecer os métodos mais eficientes dentre os propostos, primeiramente estes foram implementados, e comparados com as técnicas presentes na literatura. Após esta etapa, foram realizados experimentos com o método proposto, validado como de melhor desempenho, operacionalizando-se variações das configurações deste método em busca de sua otimização. Após o estabelecimento de um método e configurações mais eficientes, foi realizado avaliação da aplicabilidade da máscara de nitidez.

## 5.1 Avaliação de desempenho dos métodos propostos

Após a *expertise* adquirida na implementação e alguns experimentos com os métodos propostos 1, 2, 3 e 4, os parâmetros de configuração da SWT e dos filtros de média e majoritário foram estabelecidos, *a priori*, baseando-se na qualidade visual das imagens. Dessa forma, foram utilizados: família *wavelet* Daubechies, db1, 1 nível de decomposição, filtro de média 7x7 e filtro majoritário 5x5.

Para análise quantitativa do desempenho geral dos 4 métodos propostos, estes foram aplicados às 328 pilhas de imagens baciloscópicas de campo claro descritas na seção de Materiais. Estes métodos propostos foram comparados entre si e com os métodos da literatura.

Os gráficos das Figuras 18 e 19 ilustram os valores resultantes para as métricas Variância e MEIP, respectivamente, em cada uma das 2983 imagens fundidas de BAAR.

A Tabela 19 apresenta a média e o desvio-padrão para os valores apresentados nos gráficos das Figuras 18 e 19, o *ranking* de todos os métodos e uma amostra de BAAR resultante para cada técnica.


Figura 18 - Gráfico dos valores de Variância para as 2983 imagens de BAAR extraídos das imagens de baciloscopia de campo claro fundidas resultantes de cada um dos 10 métodos avaliados.



Figura 19 - Gráfico dos valores de MEIP para as 2983 imagens de BAAR extraídos das imagens de baciloscopia de campo claro fundidas resultantes de cada um dos 10 métodos avaliados.

Tabela 19 – Informações a respeito da média e desvio-padrão resultantes para as métricas de qualidade aplicadas às técnicas PMV, FRE, CSM, WGL, EMM, ZEN 2 Pro e métodos propostos 1 a 4 avaliando 2983 imagens de BAAR fundidas; ranqueamento das técnicas e apresentação de uma amostra de BAAR resultante para cada técnica.

		Variância				Amostro		
Método	Média	Desvio- padrão	Rank	Média	Desvio- padrão	Rank	de BAAR	
PMV	119,1788	134,5472	6°	0,4411	0,0340	4°	1	

		Variância					
Método	Média	Desvio- padrão	Rank	Média	Desvio- padrão	Rank	de BAAR
FRE	134,2065	150,9254	1°	0,4142	0,0500	8°	1
CSM	120,7226	142,4306	5°	0,4412	0,0410	3° (1)	
WGL	130,7130	137,5534	2°	0,3713	0,0454	9°	S
EMM	86,9079	130,8006	10°	0,3552	0,0575	10°	1
ZEN 2 Pro	117,5485	138,9639	9°	0,4334	0,0417	6°	1
Método 1	118,2363	133,8744	7°	0,4404	0,0401	5°	1
Método 2	123,5340	137,6070	4°	0,4523	0,0407	2°	1
Método 3	126,4568	137,2343	3°	0,4606	0,0393	1°	1
Método 4	117,8281	136,9674	8°	0,4295	0,0398	7°	A

(1) O método da literatura CSM obteve o melhor desempenho dentre as técnicas da literatura, como mostrado na Tabela 16.

Da Tabela 19, é possível observar que dentre todas as técnicas avaliadas, o método 3 se destaca nos valores resultante para as métricas Variância e MEIP. Além disso, é possível ver que a qualidade visual do BAAR utilizado como amostra é superior à qualidade dos BAAR resultantes de todas as demais técnicas.

Ao avaliar o método 3 com respeito à métrica MEIP, este se mostrou o melhor em qualidade. E quando avaliado pela métrica Variância, este se apresentou como o 3º melhor no *ranking*. Porém, com respeito ao desempenho das técnicas FRE e WGL que apresentaram, respectivamente, a 1ª e 2ª posições no *ranking* da Variância, nota-se que as mesmas não apresentam bons resultado para a métrica MEIP, que mede a preservação de cores e das estruturas das imagens originais. Estas duas técnicas ficaram entre as de pior desempenho na métrica MEIP: 8° e 9° (entre 10 posições), respectivamente, resultando em BAAR visivelmente mais degradados do que o BAAR resultante do método 3.

Nesse sentido, tem-se como hipótese que devido ao método 3 apresentar nas primeiras posições do *ranking* em ambas as métricas, este conseguiu prover uma qualidade de fusão superior as demais técnicas. Para facilitar o entendimento, o método 3 proposto passará a ser designado apenas como "método proposto".

5.1.1 Validação estatística dos resultados

Para investigar o significado dos dados apresentados na Tabela 19, foi realizado o teste de hipóteses *t de Student* (Apêndice A). Foram definidas duas frentes de investigação: (1) uma para avaliar se é significativa a diferença da média da métrica Variância para o método proposto em relação às médias dos métodos que o antecedem no *ranking* da Tabela 19 (FRE e WGL) e (2) outra frente para avaliar se é estatisticamente significativo a diferença de desempenho, segundo a métrica MEIP, do método proposto e o método CSM.

Para todos os testes desta dissertação, foi estabelecido um nível de confiança de 95%. (p = 0.05).

As Tabelas 20 e 21 apresentam os valores do teste de significância estatística para os métodos proposto e o FRE e o WGL, respectivamente.

Tabela 20 - Resultado do teste estatístico de significância da diferença entre as médias do FRE e do método proposto com respeito à métrica de variância.

Método	Média	Desvio-padrão	Grau de liberdade	Valor crítico (p = 0,05)	Valor do teste	
FRE	$\overline{x} = 134,2065$	$s_x = 150,9254$				
Método proposto	$\overline{y} = 126,4568$	$s_y = 137,2343$	N = 5911	$t_c = 1,960$	t = 2,074	

Método	Média	Desvio-padrão	Grau de liberdade	Valor crítico (p = 0,05)	Valor do teste
WGL	$\overline{x} = 130,7130$	$s_x = 137,5534$			
Método	$\overline{v} = 126.4568$	$s_{\rm s} = 137.2343$	N = 5964	$t_c = 1,960$	t = 1,1964
proposto	y 120,1000	oy 107, <b>1</b> 010			

Tabela 21 - Resultado do teste estatístico de significância da diferença entre as médias do WGL e do método proposto com respeito à métrica de variância.

Em ambos os casos, o valor  $t > t_c$ , indica que a diferença entre a média resultante para o método proposto e os métodos FRE e WGL possuem significância estatística, ou seja, o método proposto não se equipara aos métodos FRE e WGL no que diz respeito a qualidade de foco das imagens. Sendo necessário a busca de configurações que otimizem este resultado.

A Tabela 22 apresenta os resultados da segunda frente de investigação (desempenho segundo a métrica MEIP) para os métodos proposto e o CSM.

Tabela 22 - Resultado do teste estatístico de significância da diferença entre as médias do CSM e do método proposto com respeito à métrica MEIP.

Método	Média	Desvio-padrão	Grau de liberdade	Valor crítico (p = 0,05)	Valor do teste
Método proposto	$\bar{x} = 0,4606$	$s_x = 0,0393$	N = 5953	$t_c = 1,960$	t = 18,7496
CSM	$\overline{y} = 0,4412$	$s_y = 0,0410$		C I	

O valor  $t > t_c$  indica que o método proposto é comprovadamente o melhor no *ranking* na qualidade medida pela métrica MEIP. Pois é o 1º na classificação desta métrica e possui diferença estatística em relação ao melhor método da literatura (CSM).

Do exposto, nota-se que o método proposto conseguiu prover uma qualidade de fusão superior, ao obter boa qualidade em ambas as métricas utilizadas, pois mantém bom balanço entre a preservação de estruturas e cores (MEIP) e o foco (Variância). Porém, cabe a investigação da otimização da qualidade de foco, pois foi provado que o método proposto ainda não se equipara aos métodos que o antecedem no *ranking* da métrica que mede esta característica, a Variância (FRE e WGL).

No próximo tópico, serão demonstrados a execução de experimentos com o referido método, variando-se os parâmetros da Transformada *Wavelet* Estacionária (SWT) e tamanho das janelas dos filtros de média e majoritário, na busca de potencializar o desempenho deste método proposto.

### 5.2 Otimização dos parâmetros de configuração

Para a comparação realizada no tópico anterior, utilizou-se a família *wavelet* Daubechies, db1, 1 nível de decomposição, filtro de média 7x7 e filtro majoritário 5x5 como parâmetros.

Nesta fase, buscou-se realizar a otimização destes parâmetros no intuito de aumentar a qualidade resultante para o método proposto, especialmente aumentando a qualidade de foco representada pela métrica Variância e buscando-se, ainda, manter um alto desempenho para a métrica MEIP. Os parâmetros foram variados e testados em etapas.

Nesse processo foram utilizadas 20 pilhas de BAAR dentre as 328 pilhas de imagens baciloscópicas de campo claro.

### 5.2.1 Parâmetros da SWT

Os primeiros parâmetros testados foram os da SWT: a família *wavelet*, função base e nível de decomposição (ND). Para a parametrização das configurações da SWT, o tamanho das janelas dos filtros de média e majoritário foram mantidos em 7x7 e 5x5, respectivamente. As famílias *wavelet*, funções base e quantidade de níveis de decomposição utilizados nesta parametrização estão descritos na Tabela 23 a seguir.

Família <i>wavelet</i>	Funções base (wavelets disponíveis)	Número de níveis de decomposição (ND) utilizados
BiorSplines	bior1.5, bior3.9, bior5.5	2
Coiflets	coif1, coif3, coif5	2
Daubechies	db1, db5, db10	2
Symlets	sym2, sym5, sym8	2

Tabela 23 - Informações sobre os parâmetros da SWT utilizados.

A Tabela 24 apresenta a média e desvios-padrões dos valores resultantes em cada configuração da SWT para as métricas Variância e MEIP, além do *ranking* e uma amostra de BAAR resultante para cada uma destas parametrizações.

Nota-se pelas amostras de BAAR que em todas as configurações da Transformada *Wavelet* Estacionária, a qualidade visual do bacilo utilizado como exemplo permanece semelhante ao apresentado na Tabela 19 da seção 5.1, apresentando-se bastante visível e com poucas degradações perceptíveis.

Dentre todas as configurações da SWT, a família *wavelet* BiorSplines, com função base bior1.5, com 1 nível de decomposição foi notada como a mais interessante, conforme as seguintes considerações:

- → Em relação aos parâmetros utilizados na seção 5.1 (família *wavelet* Daubechies, db1 com 1 nível de decomposição), esta configuração obteve um desempenho melhor na qualidade de foco Variância: a configuração BiorSplines, bior1.5, com 1 nível de decomposição obteve o 3º melhor resultado em contraste com a configuração Daubechies, db1 com 1 nível de decomposição que obteve a 18º posição neste *ranking*;
- → A configuração BiorSplines, bior1.5, com 1 nível de decomposição que obteve o 3º melhor resultado para a métrica Variância, também obteve um resultado para a métrica MEIP (4º melhor) que supera as configurações que ficaram em 1º e 2º posições para a métrica Variância. Como pode ser observado na Tabela 24,

estas configurações obtiveram as posições para a métrica MEIP, respectivamente: 21° e 15°;

- → Ao se observar também o desempenho da configuração BiorSplines, bior1.5, com 1 nível de decomposição para a métrica MEIP (4º melhor resultado), verifica-se que esta supera, na Variância, as configurações que ficaram em 1º, 2º e 3º posições na MEIP. Estas configurações obtiveram as posições para a métrica Variância, respectivamente: 18º, 16º e 17º. Em contraste com a configuração BiorSplines, bior1.5, com 1 nível de decomposição que obteve o 3º melhor resultado para a métrica Variância;
- → Dentre todas as configurações da SWT, a família *wavelet* BiorSplines, com função base bior1.5, com 1 nível de decomposição foi considerada a que apresenta melhor equilíbrio entre as métricas Variância e MEIP.

Assim, a configuração para SWT: família *wavelet* BiorSplines, com função base bior1.5, com 1 nível de decomposição foi escolhida para dar continuidade nesta otimização dos parâmetros. Na seção seguinte será feito a busca do tamanho ideal da janela do filtro de média.

Tabela 24 – Desempenho apresentado pelo método proposto em função dos parâmetros da SWT: função bas	e,
família wavelet e nível de decomposição (ND). As métricas foram aplicadas nas 628 imagens fundidas de BAA	R
extraídas.	

Familia	Euroão		Variância				A			
Familia Wavelet	r unçao Base	ND	Média	Média Desvio- padrão Rank		Média	Desvio- padrão Rank		de BAAR	
BiorSplines	bior1.5	1	149,1214	108,4055	3°	0,4673	0,0332	4°	1	
		2	149,4507	107,8389	2°	0,4584	0,0336	15°	1	
	bior3.9	1	147,9528	109,2001	22°	0,4623	0,0342	8°	I	
		2	150,8190	112,1043	1°	0,4486	0,0345	21°	1	

Família	Euroão			Variância			MEIP		Amostra	
Wavelet	Base	ND	Média	Desvio- padrão	Rank	Média	Desvio- padrão	Rank	de BAAR	
	bior5 5	1	148,4319	106,8892	19°	0,4604	0,0341	11°	1	
	01013.3	2	146,9466	105,1610	24°	0,4478	0,0342	22°	1	
	ao;if1	1	148,6968	107,9476	16°	0,4686	0,0336	2°	X	
	conn	2	148,1149	106,5570	20°	0,4602	0,0340	13°	1	
Caiflata	:f2	1	148,9082	108,1445	11°	0,4634	0,0338	6°	X	
Connets	coif3	2	148,6997	106,8486	15°	0,4524	0,0341	18°	X	
	coif5	1	148,9356	108,1068	8°	0,4617	0,0339	10°	1	
		2	148,9340	107,0724	9°	0,4491	0,0341	20°	N.	
	db1	1	148,4857	107,5866	18°	0,4707	0,0333	1°	1	
		2	147,8040	106,2632	23°	0,4657	0,0338	5°	1	
Deckeding	11.5	1	148,8895	108,0467	13°	0,4627	0,0340	7°	X	
Daubechies	005	2	148,7149	106,8549	14°	0,4529	0,0341	17°	X	
	410	1	148,9302	107,8591	10°	0,4587	0,0342	14°	X	
	db10	2	149,1038	107,5863	4°	0,4464	0,0345	23°	1	
Symplete		1	148,6813	107,8831	17°	0,4684	0,0337	3°	1	
Symiets	sym2	2	148,0957	106,4746	21°	0,4603	0,0340	12°	1	

Família	Funcão			Variância			MEIP		Amostro
Wavelet	Base	ND	Média	Desvio- padrão	Rank	Média	Desvio- padrão	Rank	de BAAR
	<del>-</del>	1	148,9472	108,3131	6°	0,4634	0,0338	6°	X
	sym5	2	148,9670	108,1814	5°	0,4538	0,0341	16°	1
		1	148,9360	108,0440	7°	0,4622	0,0338	9°	X
	sym8	2	148,8900	107,0298	12°	0,4508	0,0341	19°	1

### 5.2.2 Parâmetros do filtro de média

Г

O tamanho da janela para o filtro de média foi o parâmetro que foi variado e testado neste tópico e assumiu os tamanhos: 3x3, 5x5, 7x7, 9x9, 11x11, 13x13, 15x15, 17x17, 19x19, 21x21 e 23x23 (dimensões inferiores ou iguais ao comprimento médio dos retângulos que envolvem os bacilos). Foram utilizadas as configurações definidas na seção anterior para a SWT e o tamanho da janela do filtro majoritário foi mantido em 5x5.

A Tabela 25 apresenta a média e desvios-padrões dos valores resultantes para as métricas Variância e MEIP em cada configuração do filtro de média, além do *ranking* de cada parametrização e uma amostra de BAAR.

Tabela 25	Cabela 25 - Desempenho apresentado pelo método proposto em função dos parâmetros do filtro de média: tamanho								
da janela -	da janela - 3x3, 5x5, 7x7, 9x9, 11x11, 13x13, 15x15, 17x17, 19x19, 21x21 e 23x23.								
Eamilia	<b>F</b> 0 ~ 0		Tam.	Variância	MEIP	Amostra			
Familia	F unçao	ND	do	Deguio	Deguio	do			

Família	Euroão	ND	Tam.	Variância			MEIP			Amostra
Wavelet	Base		do filtro	Média	Desvio- padrão	Rank	Média	Desvio- padrão	Rank	de BAAR
Bior Splines	bior1.5	1	3x3	136,4106	98,2067	11°	0,4418	0,0312	11°	
		1	5x5	145,5923	104,2416	7°	0,4592	0,0328	10°	

E/1	E ~ -		Tam.		Variância			MEIP		Amostra
Famma Wavelet	Base	ND	do filtro	Média	Desvio- padrão	Rank	Média	Desvio- padrão	Rank	de BAAR
			7x7	149,1214	108,4055	2°	0,4673	0,0332	9°	X
			9x9	149,5490	110,6724	1º	0,4713	0,0334	8°	X
			11x11	148,8080	111,9191	3°	0,4735	0,0337	7°	X
			13x13	147,7903	112,4815	4°	0,4746	0,0339	6°	X
			15x15	146,8075	112,6956	5°	0,4753	0,0339	5°	
			17x17	145,9226	112,6057	6°	0,4758	0,0338	4°	
			19x19	145,1694	112,4801	8°	0,4763	0,0340	3°	1
			21x21	144,5717	112,3359	9°	0,4766	0,0341	2°	1
			23x23	144,1008	112,2134	10°	0,4769	0,0341	1°	X

Ao observar as informações contidas na Tabela 25, fica evidente que os tamanhos de janela para o filtro de média influenciam na qualidade da imagem fundida, tanto nos valores das métricas quanto no aspecto visual do BAAR.

As janelas de menores dimensões 3x3 e 5x5 apresentaram resultados inferiores para as métricas em relação aos resultados obtidos com a dimensão 7x7 utilizada até a seção anterior. Esses baixos resultados para as métricas fazem com que a qualidade do processo de fusão decaia, o que pode ser comprovado pela qualidade visual dos BAAR. Os resultados para a métrica Variância são os melhores para o tamanho de janela 9x9. Para a métrica MEIP, os resultados progridem conforme cresce a dimensão da janela do filtro.

Como pode ser observado na Tabela 19 da seção 5.1, precisa-se especialmente aumentar a qualidade de foco representada pela métrica Variância, buscando-se manter o equilíbrio desta com a métrica MEIP. Tendo isso em mente, a dimensão 9x9 foi a mais interessante para dar continuidade nesta pesquisa, ressaltando-se que o valor para a métrica MEIP utilizando este tamanho de janela (0,4713) é maior do que o resultado para a janela 7x7 que vinha sendo usada até a etapa anterior (0,4673). Assim, na próxima seção esta configuração foi utilizada na realização da parametrização do filtro majoritário, dado que as duas métricas obtiveram um crescimento no resultado.

#### 5.2.3 Parâmetros do filtro majoritário

Para avaliação da parametrização do filtro majoritário, manteve-se a utilização dos parâmetros bior1.5 com 1 nível de decomposição para a SWT e o filtro de média com a janela de tamanho 9x9. As dimensões do filtro majoritários avaliadas foram: 3x3, 5x5, 7x7, 9x9, 11x11, 13x13, 15x15, 17x17, 19x19, 21x21 e 23x23.

A Tabela 26 mostra a média e desvios-padrões dos valores resultantes para as métricas Variância e MEIP em cada configuração do filtro majoritário, o *ranking* e uma amostra de BAAR para cada parametrização.

Um fato interessante é que as métricas se comportam de maneira oposta em relação ao tamanho do filtro majoritário. A métrica Variância diminui a qualidade com o tamanho da janela e a métrica MEIP aumenta à medida que aumenta o tamanho da janela do filtro.

Como mencionado anteriormente, um dos objetivos desta parametrização é aumentar o máximo possível a qualidade de foco da fusão, representado pela métrica Variância. O valor máximo desta métrica está na utilização da janela 3x3. Entretanto, ao observar a métrica MEIP, esta decai de maneira que seu valor é inferior ao resultado obtido pela configuração Daubechies,

db1 com 1 nível de decomposição (Tabela 24). Dessa forma, optou-se por manter a janela 5x5, a mesma que vem sendo utilizada até este momento, para que a métrica Variância seja alta suficiente e que a métrica MEIP não decaia.

Tabela 26	- Desemp	penho	apresentade	o pelo	método	proposto	em fi	unção	dos	parâmetros	do	filtro	majoritá	írio:
tamanho da	janela -	3x3, 5	x5, 7x7, 9x	9, 11x	11, 13x1	3, 15x15,	17x1′	7, 19x1	19, 2	1x21 e 23x2	23.			

Família	Funcão		Tam.	( T	Variância			MEIP		Amostra				
Wavelet	Base	ND	do filtro	Média	Desvio- padrão	Rank	Média	Desvio- padrão	Rank	de BAAR				
			3x3	149,6103	110,6125	1°	0,4705	0,0336	11°	J				
			5x5	149,5490	110,6724	2°	0,4713	0,0334	10°	1				
			7x7	149,3555	110,6869	3°	0,4719	0,0334	9°	Í.				
			9x9	149,1615	110,7852	4°	0,4722	0,0334	8°	J.				
			11x11	148,9771	110,8177	5°	0,4725	0,0335	7°	J.				
Bior Splines	bior1.5	1.5 1	13x13	148,7563	110,8676	6°	0,4726	0,0336	6°	1				
			15x15	148,5077	110,9275	7°	0,4729	0,0337	5°	1				
							17x17	148,3057	111,0163	8°	0,4730	0,0338	4°	X.
				19x19	148,0889	110,9969	9°	0,4731	0,0339	2°	1			
			21x21	147,9212	110,9216	10°	0,4731	0,0340	3°	1				
			23x23	147,7667	110,9242	11°	0,4732	0,0339	1°	1				

### 5.3 Avaliação de desempenho do método proposto com a configuração otimizada

Os gráficos das Figuras 20 e 21 ilustram os valores resultantes para as métricas Variância e MEIP, respectivamente, em cada uma das 2983 imagens fundidas de BAAR (o conjunto total de BAAR disponíveis) para o método proposto e para as técnicas da literatura. A Tabela 27 apresenta a média e o desvio-padrão para os valores apresentados nos gráficos das Figuras 20 e 21, o *ranking* de todos os métodos e uma amostra de BAAR resultante para cada técnica.

Observa-se que a configuração definida experimentalmente aumentou o resultado de ambas as métricas para o método proposto (vide Tabela 19), e este se mantém com o melhor equilíbrio de características em relação aos métodos da literatura.

Para investigar o significado dos dados apresentados na Tabela 27, foi realizado novamente o teste de hipóteses *t de Student*.

De maneira semelhante à seção 5.1.1, foram definidas duas frentes de investigação: (1) uma para avaliar se é significativa a diferença da média da métrica Variância para o método proposto em relação às médias dos métodos que o antecedem no *ranking* da Tabela 27 (FRE e WGL) e (2) outra frente para avaliar se é estatisticamente significativo a diferença de desempenho, segundo a métrica MEIP, do método proposto e o método CSM.

A Tabela 28 apresenta os valores do teste de significância estatística para os métodos proposto e o FRE.

Neste teste, o valor t < t<sub>c</sub>, indica que a diferença entre a média resultante para o método proposto e para o método FRE não possui significância estatística. Assim, diferentemente do resultado anterior à otimização, o método proposto equipara-se ao FRE em valores para a qualidade representada pela métrica Variância.



Figura 20 - Gráfico dos valores de Variância para as 2983 imagens de BAAR extraídos das imagens de baciloscopia de campo claro fundidas resultantes obtidas pelo processamento das técnicas da literatura e do método 3 com a configuração testada como a melhor.



Figura 21 - Gráfico dos valores de MEIP para as 2983 imagens de BAAR extraídos das imagens de baciloscopia de campo claro fundidas resultantes obtidas pelo processamento das técnicas da literatura e do método 3 com a configuração testada como a melhor.

Tabela 27 – Informações a respeito da média e desvio-padrão resultantes para as métricas de qualidade aplicadas às técnicas PMV, FRE, CSM, WGL, EMM, ZEN 2 Pro e métodos proposto com a configuração determinada experimentalmente avaliando 2983 imagens de BAAR fundidas; ranqueamento das técnicas e apresentação de uma amostra de BAAR resultante para cada técnica.

	Variância MEIP						A management
Método	Média	Desvio- padrão	Rank	Média	Desvio- padrão	Rank	de BAAR
PMV	119,1788	134,5472	5°	0,4411	0,0340	3°	1
FRE	134,2065	150,9254	1°	0,4142	0,0500	5°	1
CSM	120,7226	142,4306	4°	0,4412	0,0410	2°	1
WGL	130,7130	137,5534	2°	0,3713	0,0454	6°	A
EMM	86,9079	130,8006	7°	0,3552	0,0575	7°	1
ZEN 2 Pro	117,5485	138,9639	6°	0,4334	0,0417	4°	1
Método 3	127,6177	141,0427	3°	0,4622	0,0398	1°	1

Tabela 28 - Resultado do teste estatístico de significância da diferença entre as médias do FRE e do método proposto (otimizado) com respeito a métrica de variancia.

Método	Média	Desvio-padrão	Grau de liberdade	Valor crítico (p = 0,05)	Valor do teste
FRE	$\overline{x} = 134,2065$	$s_x = 150,9254$			
Método proposto	$\overline{y} = 127,6177$	$s_y = 141,0427$	N = 5936	$t_c = 1,960$	t = 1,743

A Tabela 29 apresenta os valores do teste de significância estatística para os métodos proposto e o WGL.

Como também neste caso, t < t<sub>c</sub>, diz-se que a diferença entre a média resultante para o método proposto e para o método WGL também não apresenta significância estatística.

Método	Média	Desvio-padrão	Grau de liberdade	Valor crítico (p = 0,05)	Valor do teste
WGL	$\overline{x} = 130,7130$	$s_x = 137,5534$			
Método proposto	$\overline{y} = 127,6177$	$s_y = 141,0427$	N = 5960	$t_c = 1,960$	t = 0,8585

Tabela 29 - Resultado do teste estatístico de significância da diferença entre as médias do WGL e do método proposto (otimizado) com respeito a métrica de variancia.

Dessa forma, após o processo de otimização, o método proposto conseguiu equipararse aos métodos FRE e WGL no que diz respeito a qualidade de foco das imagens medida pela métrica Variância.

A Tabela 30 apresenta os resultados da segunda frente de investigação (desempenho segundo a métrica MEIP) dos métodos proposto e o CSM.

O valor t > t<sub>c</sub> comprova o método proposto como o melhor no *ranking* na qualidade medida pela métrica MEIP, com uma observação: a diferença estatística entre o método proposto e o CSM aumentou de 18,7496, da Tabela 22, para 82,1561, da Tabela 30, o que comprova a otimização da qualidade medida pela MEIP.

Tabela 30 - Resultado do teste estatístico de significância da diferença entre as médias do CSM e do método proposto (otimizado) com respeito à metrica MEIP.

Método	Média	Desvio-padrão	Grau de liberdade	Valor crítico (p = 0,05)	Valor do teste
Método proposto	$\bar{x} = 0,4622$	$s_x = 0,0398$	N = 5860	$t_c = 1,960$	t = 82,1561
CSM	$\overline{y} = 0,4412$	$s_y = 0,0410$			

Portanto, o método proposto com a configuração família *wavelet* BiorSplines, função base bior1.5, com 1 nível de decomposição, filtro de média 9x9 e filtro majoritário 5x5 é o método que apresenta o melhor desempenho para imagens baciloscópicas de campo claro.

A Figura 22 mostra outros exemplos de imagens de BAAR para análise visual das imagens resultantes do processamento de cada técnica da literatura e do método proposto.

Na primeira coluna foram dispostas imagens de BAAR retiradas da imagem mais em foco (#6) de pilhas de imagens originais adquiridas no microscópio. A imagem mais em foco foi escolhida para exibição pois, atualmente, pesquisas em baciloscopia automatizada realizam a detecção de bacilos na imagem mais em foco (COSTA FILHO *et al*, 2015). Dessa forma, pode-se verificar qual a contribuição do processamento da fusão multifocal em imagens de baciloscopia de campo claro para a detecção automática.

Nas demais colunas, foram dispostas as imagens de BAAR fundidas, correspondentes à primeira coluna, que derivaram dos processamentos das técnicas da literatura e do método proposto, conforme identificado abaixo de cada coluna. As pilhas de BAAR que originam estas regiões de imagens fundidas estão disponíveis no Apêndice B deste trabalho.

Os três primeiros BAAR (3 primeiras linhas) foram retirados de regiões em que o fundo possui baixa concentração de corante (azul de metileno, utilizado para contraste no método de colocação Kinyoun), os demais bacilos foram retirados de regiões em que o fundo possui alta concentração de corante.

As observações que podem ser tomadas a partir da Figura 22 são:

- → Na maioria das imagens resultantes, o método proposto e as demais técnicas de fusão de imagens multifocais implementada são capazes de evidenciar os bacilos que estão pouco visíveis ou borrados na imagem mais em foco (#6), sendo que a técnica EMM é a que apresenta pior qualidade visual na maioria das respostas;
- → Entretanto, a maioria das técnicas causou grandes distorções nos bacilos presentes nas imagens onde o fundo possui alta concentração de corante, exceto o método proposto cujos bacilos apresentam os melhores aspectos visuais.
- → Os bacilos presentes nas imagens onde o fundo possui baixa concentração de corante alcançaram aspecto visual melhor do que os bacilos presentes em imagens com fundo de alta concentração;



Figura 22 – Exemplos de imagens de BAAR para análise visual. A primeira coluna é composta de imagens de BAAR obtidas da imagem #6 que compõem as pilhas de imagens originais. Nas demais colunas, foram dispostas as imagens de BAAR, correspondentes à primeira coluna, fundidas pelos processamentos das técnicas PMV, FRE, CSM, WGL, EMM, ZEN 2 Pro e do método proposto. As três primeiras linhas são compostas de BAAR retirados de regiões de fundo com baixa concentração de corante de contrastante, os demais bacilos foram retirados de regiões de fundo com alta concentração.

O método proposto é a técnica de melhor desempenho para imagens baciloscópicas de campo, pois foi possível comprovar por meio das métricas quantitativas Variância e MEIP e aspectos visuais que este método apresenta o melhor desempenho de qualidade diante das técnicas da literatura analisadas, especialmente quando utilizadas as configurações determinadas na fase de otimização dos parâmetros.

### 5.4 Aplicação e análise do realce de nitidez

A partir de um método de fusão de imagens multifocais para imagens baciloscópicas de campo claro, outros processamentos podem ser adicionados às imagens fundidas, de maneira optativa, para variados objetivos. Um exemplo de processamento adicional é o aumento da qualidade de foco das imagens, com o objetivo de realçar as informações contidas nas imagens. A máscara de nitidez é um dos processamentos indicado para esta tarefa. Este tipo de processamento adicional pode ser utilizado para aplicações onde seja necessária a visão de máquina (detecção automática) ou a visão humana (como marcações de bacilos por especialistas para determinação de um padrão ouro visando a detecção automática, por exemplo) sobre os BAAR.

Neste contexto, a máscara de nitidez foi aplicada aos BAAR presentes na Figura 23 e o resultado avaliado para exemplificação da eficiência da máscara, cujo conceito teórico encontra-se no Apêndice A deste trabalho. Utilizou-se os seguintes parâmetros: desvio-padrão igual a 2 e k igual a 1. A Figura 23 mostra as imagens resultantes e os efeitos sobre a Variância das imagens e sobre os aspectos visuais dos BAAR após o realce.

Nas colunas (a) e (b) da Figura 23, estão presentes imagens de BAAR retiradas da imagem mais em foco (#6) (dentre as imagens originais) e imagens resultantes da aplicação do método proposto, respectivamente. Na coluna (c) estão as imagens resultantes da aplicação da máscara de nitidez às imagens da coluna (b). Ao lado direito de cada imagem, está o valor medido da Variância, que representa a qualidade de foco das imagens.

Nota-se que o processo de fusão aplicado melhora a qualidade de foco em todas as imagens de regiões de BAAR, o que pode ser confirmado pelo valor da Variância e pelo aspecto visual das imagens que apresentam o bacilo mais evidente nas imagens processadas. Ao aplicar a máscara de nitidez, percebe-se que a Variância também aumenta em todos os casos e que o efeito borrado que está sobre os bacilos é atenuado.



Figura 23 – Aplicação da máscara de nitidez. (a) imagens de BAAR retiradas da imagem mais em foco (#6), (b) imagens resultantes da aplicação do método proposto, (c) imagens resultantes da aplicação da máscara de nitidez às imagens da coluna (b). Ao lado direito de cada imagem, está o valor medido da Variância.

### 5.5 Considerações finais a respeito dos resultados apresentados

Nesta seção, foram expostos os resultados deste trabalho, onde foi constatado que o método proposto foi o mais eficiente para aplicação da fusão de imagens multifocais a imagens baciloscópicas de campo claro. Variando-se os parâmetros da SWT e os tamanhos das janelas dos filtros de média e majoritário deste método, a seguinte configuração foi determinada experimentalmente: família *wavelet* BiorSplines, função base bior1.5, 1 nível de decomposição, filtro de média 9x9 e filtro majoritário 5x5.

Após finalizar a proposta do método como a técnica mais indicada para a fusão de imagens multifocais de baciloscopia de campo claro, foi discutido a aplicação de pósprocessamentos às imagens fundidas. Foi dado como exemplo a aplicação da máscara de nitidez, útil para realçar o foco e, consequentemente, as informações contidas nas imagens de maneira que o aspecto das imagens possam melhorar as visões de máquina e humana.

# **6 CONCLUSÕES**

A baciloscopia direta continua tendo papel relevante no diagnóstico da Tuberculose pulmonar, pois permite descobrir as fontes de infecção mais relacionadas à manutenção da cadeia de transmissão. No entanto, essa técnica padece com problemas de variabilidade intra e interobservador, tornando a busca por um método automático de extrema relevância. Um método de fusão de imagens associado a técnicas de detecção e contagem de bacilos nos campos baciloscópicos viabilizará a baciloscopia automática.

Dentro desse contexto, neste trabalho, diferentes técnicas de fusão de imagens multifocais aplicadas em imagens microscópicas de bacilos de tuberculose foram implementadas e avaliadas quantitativamente através de métricas de qualidade. Novos métodos foram propostos e avaliados. As medidas de qualidade aplicadas nas imagens de bacilos resultantes foram a Variância e MEIP.

Os métodos propostos foram implementados no domínio da frequência, utilizando SWT. Após a aplicação das métricas Variância e MEIP, foi possível determinar o método mais indicado para aplicação da fusão de imagens multifocais a imagens baciloscópicas de campo claro. Variando-se os parâmetros para a SWT e os tamanhos das janelas dos filtros de média e majoritário deste método, foram determinadas as configurações ideais para esta tarefa.

Após finalizar a proposta do método, foi discutido a aplicação opcional da máscara de nitidez para realçar o foco e, consequentemente, as informações contidas nas imagens de maneira que o aspecto das imagens possam melhorar a visão de máquina e humana.

Como trabalhos futuros, sugere-se a investigação do processamento do referido método utilizando abordagens que afetam o tempo de processamento, como: a utilização de processamento paralelo para os três canais de cores R, G e B ou utilização de imagens em escala de cinza obtidas das imagens coloridas (como componentes de intensidade de espaços de cor tais como HSI - *Hue, Saturation, Intensity*) para verificar a possibilidade de diminuir o tempo de processamento e aumentar ou manter a qualidade das imagens.

Outros trabalhos futuros são de fundamental importância para fusão de imagens multifocais, como o desenvolvimento de um método de registro prévio das imagens para o alinhamento das mesmas ao longo do eixo óptico (eixo z) e avaliação de quanto tal processamento vai importar na melhoria da qualidade da fusão de imagens microscópicas de campo claro para o diagnóstico da tuberculose.

### REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. **Tuberculose**. Disponível em: <a href="http://portalsaude.saude.gov.br/index.php?option=com\_content&view=article&id=11045&It">http://portalsaude.saude.gov.br/index.php?option=com\_content&view=article&id=11045&It">http://portalsaude.saude.gov.br/index.php?option=com\_content&view=article&id=11045&It">http://portalsaude.saude.gov.br/index.php?option=com\_content&view=article&id=11045&It">http://portalsaude.saude.gov.br/index.php?option=com\_content&view=article&id=11045&It">http://portalsaude.saude.gov.br/index.php?option=com\_content&view=article&id=11045&It">http://portalsaude.saude.gov.br/index.php?option=com\_content&view=article&id=11045&It"</a>

BUENO, Mario; et al. **Polychromatic image fusion algorithm and fusion metric for automatized microscopes**. Optical Engineering, v. 44, n.9, p. 093291-093201-7, 2005.

CASTTLEMAN, Kenneth; MERCHANT, Fatima; WU, Qiang. Microscope Image **Processing**. 1 ed. Londres: Academic Press, 2008.

COSTA FILHO, Cícero; et al. Automatic identification of tuberculosis mycobacterium. Research on Biomedical Engineering, v. 31, p. 33-43, 2015.

COSTA, Marly; et al. A Sputum Smear Microscopy Image Database for Automatic Bacilli Detection in Conventional Microscopy. In: 2014 36th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2014a.

COSTA, Marly; et al. Automatic identification of mycobacterium tuberculosis with conventional light microscopy. In: 2008 30th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2008.

COSTA, Marly; et al. Viabilizando o benchmark de técnicas de detecção automática de bacilos da tuberculose em imagens baciloscópicas de campo claro. In: XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica (CBEB), Uberlândia, 2014b.

FMT-HVD. Manual de Rotinas da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas:<br/>Tuberculose.Manaus,<br/>2003Disponível<br/>em:<br/>em:<br/><http://www.fmt.am.gov.br/manual/tuberculose.htm>.Acesso em 26 jul. 2016, 13:18:30.

GANDHI, Tapan; et al. A comparative study of wavelet families for EEG signal classification. Neurocomputing, v. 74, p. 3051-3057, 2011.

GONZALEZ, Rafael; WOODS, Richard. **Processamento Digital de Imagens**. 3. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2010.

KIMURA, Almir; COSTA, Marly; COSTA FILHO, Cícero; FUJIMOTO, Luciana; SALEM, Julia. **Evaluation of autofocus functions of conventional sputum smear microscopy for tuberculosis**. In: Proceedings of the 32nd Annual International Conference of the IEEE EMBS, 2010.

LI, Qingping; et al. **Region-based Multi-focus Image Fusion Using the Local Spatial Frequency**. In: 2013 25th Chinese Control and Decision Conference (CCDC), 2013.

LI, Shutao; KWOK, James; WANG, Yaonan. Combination of images with diverse focuses using the spatial frequency. Information Fusion, v.2, n.3, p. 169-176, 2001.

LIU, Yan; YU, Feihong. An automatic image fusion algorithm for unregistered multiply multi-focus images. Optics Communications, v. 341, p. 101-113, 2015.

MOÇAMBIQUE. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Controlo da Tuberculose. Instituto Nacional de Saúde. **Manual de Baciloscopia da Tuberculose.** Maputo, 2012.

MS. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Detectar, tratar e curar: desafios e estratégias brasileiras frente à tuberculose.** Boletim Epidemiológico, v. 46, n. 9. 2015. Disponível em: <a href="http://u.saude.gov.br/images/pdf/2015/marco/25/Boletim-tuberculose-2015.pdf">http://u.saude.gov.br/images/pdf/2015/marco/25/Boletim-tuberculose-2015.pdf</a>>. Acesso em: 09/05/2017.

PAI, Madhukar; et al. **Tuberculosis**. Nature Reviews Disease Primers, v. 2, n. 16076 (2016) doi:10.1038/nrdp.2016.76, 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Fluorescent light-emitting diode (LED) microscopy for diagnosis of tuberculosis (OMS, 2011).

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Global tuberculosis report 2016 (OMS, 2016).

PANG, Haochen; ZHU, Ming; GUO, Liqiang. **Multifocus Color Image Fusion Using Quaternion Wavelet Transform**. In: Image Signal Processing (CISP), 2012 5th International Congress on, 2012.

PETROVIC, Vladimir; PAVLOVIC, Rade; BONDZULIC, Boban. **Study of objective evaluation of natural colour image fusion**. In: Information Fusion (FUSION), 2012 15th International Conference on, 2012.

PICCININI, Filippo; et al. Extended depth of focus in optical microscopy: Assessment of existing methods and a new proposal. Microscopy Research and Technique, v. 75, n. 11, p. 1582-1592, 2012.

RAOF, Rafikha; et al. Color Thresholding Method For Image Segmentation Algorithm Of Ziehl-Neelsen Sputum Slide Images. In: Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control, 2008. CCE 2008. 5th International Conference on, 2008.

RASSEN, Rania; WANG, Zhou; SALAMA, Magdy. **Objective quality assessment for multiexposure multifocus image fusion**. IEEE Transactions On Image Processing, v. 24, n. 9, p. 2712-2724, 2015.

SADAPHAL, P.; et al. Image processing techniques for identifying Mycobacterium tuberculosis in Ziehl-Neelsen stains. Int J Tuberc Lung Dis., v. 12, n. 5, p. 579–582, 2008.

SAHIDAN, Shahiana; et al. Local and Global Contrast Stretching For Color Contrast Enhancement on Ziehl-Neelsen Tissue Section Slide Images. IFMBE Proceedings, v. 21, p. 583-586, 2008.

SALVADOR, João. **Investigação de metodologia para caracterização de cargas elétricas residenciais**. 2012. 72f. Monografia (Graduação em Engenharia Elétrica) – Escola Politécnica, Faculdade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012. SHI, Hailiang; FANG, Min. **Multi-focus Color Image Fusion Based on SWT and IHS**. In: Fuzzy Systems and Knowledge Discovery, 2007. FSKD 2007. Fourth International Conference on, 2007.

SONG, Yu; et al. A New Wavelet Based Multi-focus Image Fusion Scheme and Its Application on Optical Microscopy. In: 2006 IEEE International Conference on Robotics and Biomimetics, 2006.

STEINGART, Karen; et al. Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect Diseases, v. 6, p.570–81, 2006.

TESSENS, Linda; et al. **Extending the depth of field in microscopy through curvelet-based frequency-adaptive image fusion**. In: 2007 IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing – ICASSP '07, 2007.

TOET, Alexander; FRANKEN, Eric. Perceptual evaluation of different image fusion schemes. Displays, v. 24, n.1, p. 25-37, 2003.

WANG, Zhou; BOVIK, Alan. A universal image quality index. IEEE Signal Process Lett, v. 9, n. 3, p. 81-84, 2002.

XYDEAS, C; PETROVIC, V. **Objective image fusion performance measure**. Electron Letter, v. 36, n. 4, p. 308-309, 2000.

YUAN, Yihui; et al. **Objective quality evaluation of visible and infrared color fusion image**. Optical Engineering, v. 50, n.3, p. 033202, 2011.

## APÊNDICE A

A seguir, encontram-se alguns assuntos que apoiam os conceitos teóricos utilizados neste trabalho.

### A.1 Espaço de cores

As definições dos espaços de cores seguir foram baseadas no capítulo 6, do livro *Processamento Digital de Imagens* de Gonzalez e Woods (2010).

A.1.1 O espaço de cores RGB

No espaço de cor RGB (*red*, *green*, *blue*), cada cor aparece em seus componentes espectrais primários de vermelho, verde e azul.

Esse modelo se baseia em um sistema de coordenadas cartesianas, onde o subespaço de interesse é o cubo unitário, apresentado na Figura A1, no qual os valores RGB primários estão em três vértices; as cores secundárias ciano (C), magenta (M) e amarelo (Y, do inglês *yellow*) estão em outros três vértices; o preto (B, do inglês, *black*) está na origem; o branco (W, do inglês *White*) está no vértice mais distante da origem e a escala de cinza (pontos de valores RGB iguais) estende-se do preto até o branco ao longo do segmento de reta que une esses dois pontos.

Cada cor é representada neste modelo por pontos no cubo ou dentro dele e é definida por um vetor que se estende a partir da origem.

Imagens representadas no espaço de cor RGB consistem de três componentes de imagens (R, G e B), uma para cada cor primária. O número de bits utilizado para representar

cada *pixel* em espaço RGB é chamado de *profundidade de pixel*. Os termos "*full-color*", "*true color" ou* simplesmente "*imagem colorida*" costumam ser utilizados para expressar uma imagem de cores RGB de 24 bits.

Uma imagem colorida RGB pode ser transformada para uma imagem em escala de cinza *I* aplicando-se:

$$I(m,n) = \frac{R(m,n) + G(m,n) + B(m,n)}{3}$$
(A-1)



Figura A1- Esquema do cubo de cores RGB. FONTE: Gonzalez e Woods (2010).

em que (m, n) representa a localização do pixel. Ou, alternativamente, aplica-se um peso a cada componente como, por exemplo:

$$I(m,n) = 0.3 \cdot R(m,n) + 0.59 \cdot G(m,n) + 0.11 \cdot B(m,n)$$
(A-2)

### A.2 Filtros espaciais

A.2.1 Filtro de média

Segundo Gonzalez e Woods (2010), o filtro de média é um filtro espacial de suavização e redução de ruído. A saída deste filtro é simplesmente a média dos *pixels* contidos na vizinhança da máscara de filtragem. O filtro ou máscara de tamanho 3×3 que proporciona como resultado a média aritmética simples é apresentada na Figura A2:

1/9	<sup>1</sup> /9	1/9
1/9	<sup>1</sup> /9	<sup>1</sup> / <sub>9</sub>
1/9	1/9	1/9

Figura A2 - Filtro de média simples utilizando uma máscara de tamanho 3x3

### A.2.2 Filtro majoritário

O filtro majoritário é um filtro não linear que funciona substituindo o valor do *pixel* central pelo valor da maioria de seus *pixels* vizinhos (GU e KUNT, 1995). A Figura A3 mostra o resultado de uma aplicação do filtro majoritário ao *pixel* central.



Figura A3 - Ilustração do funcionamento do filtro majoritário atuando em uma vizinhança pré-definida 3x3. O pixel central que na imagem de entrada tinha valor 1 passou a ter valor 5 na imagem filtrada.

Os filtros da Figura A4 são chamados de operadores de Sobel. O filtro de Sobel, é um operador derivativo de primeira ordem que realiza o aguçamento ou realce de uma imagem. O principal objetivo do aguçamento é salientar transições de intensidade (bordas, mas também ruídos) para o aumento da nitidez de uma imagem. O objetivo da utilização do valor 2 no coeficiente da linha (ou coluna) central é atribuir mais importância ao pixel central (GONZALEZ e WOODS, 2010) no processo de filtragem. O filtro de Sobel é estabelecido através da soma da resposta de seus dois operadores direcionais  $G_x$  e  $G_y$ .



Figura A4 – Máscaras 3x3 operadoras do Filtro de Sobel nas direções (a) horizontal e (b) vertical

Apesar o Filtro de Sobel ser um filtro de primeira ordem direcional, o aguçamento pode também ser obtido a partir do uso de outros filtros direcionais, como os apresentados a seguir nas Figura A5 e A6.

-1	-1	-1	-1	0	1
0	0	0	-1	0	1
1	1	1	-1	0	1
	Gx			Gy	
	(a)			(b)	

Figura A5- Máscaras 3x3 operadoras do filtro derivativo de primeira ordem de Prewitt

							_							
-1	0	0		0	-1	0		0	0	0		0	0	-1
0	2	0		0	2	0		-1	2	-1		0	2	0
0	0	-1		0	-1	0		0	0	0		-1	0	0
	p = 2	1			p = 2	2		í	p = 3			1	o = 4	
(a)		(b)				(c)			(d)					

Figura A6 – Máscaras 3x3 operadoras do filtro 4-direcional: (a) diagonal, -450, (b) vertical, (c) horizontal, (d) diagonal, +450.

Utilizando os operadores da Figura A6, o gradiente local de uma imagem *I* pode ser calculado da seguinte forma:

$$G(I(m,n)) = \max\{|p * I(m,n)|\}, p = 1,2,3,4$$
(A-18)

A.2.4 Filtro de aguçamento - Máscara de nitidez

A máscara de nitidez é um processo que é utilizado pela indústria gráfica para aumentar a nitidez das imagens e consiste em subtrair, da imagem original, uma versão não nítida (borrada) da mesma. E, por fim, adicionar a máscara de nitidez à imagem original (GONZALEZ e WOODS, 2010).

Seja *I* uma imagem e  $\overline{I}$  a imagem borrada pelo filtro gaussiano, a máscara de nitidez é expressa por:

$$g_{m \acute{a} scara}(m,n) = I(m,n) - \bar{I}(m,n)$$
(A-19)

A Imagem borrada  $\overline{I}$  pode ser obtida pela filtragem gaussiana, h(m,n), dada por:

$$h(m,n) = e^{-\frac{m^2 + n^2}{2\sigma^2}}$$
 (A-20)

em que  $\sigma$  é o Desvio-padrão e (*m*, *n*) as coordenadas da janela (vizinhança) do filtro.

A imagem resultante, então é obtida a partir da expressão (A-21). Observe que a adição da máscara de nitidez na imagem original pode ser ponderada pelo valor de k:

$$g(m,n) = I(m,n) + k * g_{m \text{áscara}}(m,n)$$
(A-21)

Quando k = 1, tem-se a máscara de nitidez. Quando k > 1, o processo é chamado de filtragem hight-boost. Escolher k < 1 atenua a contribuição da máscara de nitidez.

### A.3 Teste de hipóteses t de Student

Sejam duas amostras x e y independentes que possuem variâncias diferentes, o teste estatístico *t de Student* é dado por:

$$t = \frac{\overline{x} - \overline{y}}{\sqrt{\frac{s_x^2}{n} + \frac{s_y^2}{m}}}$$
(A-22)

Em que  $\overline{x}$ ,  $s_x$  e *n* representam, respectivamente, a média, o desvio-padrão e o tamanho da amostra  $x \in \overline{y}$ ,  $s_y \in m$  representam, respectivamente, a média, o desvio-padrão e o tamanho da amostra y.

A quantidade de graus de liberdade a ser usado neste tipo de teste é definida pela equação de *Welch–Satterthwaite*:

$$N = \frac{\left(\frac{s_x^2}{n} + \frac{s_y^2}{m}\right)^2}{\frac{\left(\frac{s_x^2}{n}\right)^2}{n-1} + \frac{\left(\frac{s_y^2}{m}\right)^2}{m-1}}$$
(A-23)

A hipótese nula  $H_0$  e a hipótese alternativa  $H_1$  são estabelecidas como a seguir:

$$H_0: \overline{x} = \overline{y}$$
$$H_1: \overline{x} \neq \overline{y}$$

A tabela a seguir apresenta os valores críticos de t para o teste de hipótese *t de Student* de acordo com o grau de liberdade N e o nível de significância.

		Nível de	significância	para prova u	ınilateral	
NT	0,10	0,05	0,025	0,01	0,005	0,005
IN		Nível de	significância	para prova	bilateral	
	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	3,078	6,314	12,71	31,82	63,66	636,6
2	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,60
3	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,92
4	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922

Tabela A 1 - Valores críticos de t para o teste t de Student

		Nível de	significância	para prova u	ınilateral	
N	0,10	0,05	0,025	0,01	0,005	0,005
		Nível de	significância	n para prova	bilateral	
	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
19	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
60	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660	3,460
120	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617	3,373
00	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291

### Referências do Apêndice A

GONZALEZ, Rafael; WOODS, Richard. Processamento Digital de Imagens. 3. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2010.

GU, Chuang; KUNT, Murat. Contour simplification and motion compensated coding. Signal Processing: Image Communication, v. 7, n. 4-6, p. 279-296, 1995.

# APÊNDICE B

Neste apêndice, encontram-se algumas imagens do conjunto de dados utilizados nessa dissertação.

As Figuras B1 a B11 apresentam as imagens de fatias originais de um campo digital baciloscópico apresentado na Figura 12, seção 4.2 deste trabalho.



Figura B1 - Amostra de um campo digital baciloscópico, fatia #1.


Figura B2 - Amostra de um campo digital baciloscópico, fatia #2.



Figura B3 - Amostra de um campo digital baciloscópico, fatia #3.



Figura B4 - Amostra de um campo digital baciloscópico, fatia #4.



Figura B5 - Amostra de um campo digital baciloscópico, fatia #5.



Figura B6 - Amostra de um campo digital baciloscópico, fatia #6.



Figura B7 - Amostra de um campo digital baciloscópico, fatia #7.



Figura B8 - Amostra de um campo digital baciloscópico, fatia #8.



Figura B9 - Amostra de um campo digital baciloscópico, fatia #9.



Figura B10 - Amostra de um campo digital baciloscópico, fatia #10.



Figura B11 - Amostra de um campo digital baciloscópico, fatia #11.

Nas Figuras B12, B13, B14, B15, B16 e B17 encontram-se as imagens originais das pilhas de regiões de BAAR que originaram as imagens processadas de BAAR das Figuras 22 e 23. Também são disponibilizadas as imagens de BAAR fundidas correspondentes que derivaram dos processamentos das técnicas da literatura e do método 3 citados no texto da dissertação.



Figura B 12 – Região de BAAR 1: (a) pilha de imagens em 11 profundidades focais, sendo a fatia #6 uma região retirada da imagem calculada como a mais em foco da pilha; e imagens fundidas resultantes correspondente à pilha: (b) PMV, (c) FRE, (d) CSM, (e) WGL, (f) EMM, (g) ZEN 2 Pro, (h) método 3.



Figura B 13 – Região de BAAR 2: (a) pilha de imagens em 11 profundidades focais, sendo a fatia #6 uma região retirada da imagem calculada como a mais em foco da pilha; e imagens fundidas resultantes correspondente à pilha: (b) PMV, (c) FRE, (d) CSM, (e) WGL, (f) EMM, (g) ZEN 2 Pro, (h) método 3.



Figura B 14 – Região de BAAR 3: (a) pilha de imagens em 11 profundidades focais, sendo a fatia #6 uma região retirada da imagem calculada como a mais em foco da pilha; e imagens fundidas resultantes correspondente à pilha: (b) PMV, (c) FRE, (d) CSM, (e) WGL, (f) EMM, (g) ZEN 2 Pro, (h) método 3.



Figura B 15– Região de BAAR 4: (a) pilha de imagens em 11 profundidades focais, sendo a fatia #6 uma região retirada da imagem calculada como a mais em foco da pilha; e imagens fundidas resultantes correspondente à pilha: (b) PMV, (c) FRE, (d) CSM, (e) WGL, (f) EMM, (g) ZEN 2 Pro, (h) método 3.



Figura B 16– Região de BAAR 5: (a) pilha de imagens em 11 profundidades focais, sendo a fatia #6 uma região retirada da imagem calculada como a mais em foco da pilha; e imagens fundidas resultantes correspondente à pilha: (b) PMV, (c) FRE, (d) CSM, (e) WGL, (f) EMM, (g) ZEN 2 Pro, (h) método 3.



Figura B 17 – Região de BAAR 6: (a) pilha de imagens em 11 profundidades focais, sendo a fatia #6 uma região retirada da imagem calculada como a mais em foco da pilha; e imagens fundidas resultantes correspondente à pilha: (b) PMV, (c) FRE, (d) CSM, (e) WGL, (f) EMM, (g) ZEN 2 Pro, (h) método 3.

# APÊNDICE C

As próximas páginas apresentam as cópias de dois artigos originados deste trabalho. Um deles, intitulado: "Fusão de Imagens Multifocais em Imagens Baciloscópicas de Campo Claro", foi apresentado no 7º Simpósio de Instrumentação e Imagens Médicas (SIIM) / 6º Simpósio de Processamento de Sinais da UNICAMP (SPS-UNICAMP'2015), realizado na cidade de Campinas, São Paulo, de 21 a 23 de outubro de 2015. O outro artigo, intitulado: "Avaliação de Métodos de Fusão de Imagens Multifocais Aplicados a Imagens Baciloscópicas de Campo Claro Utilizadas no Diagnóstico da Tuberculose", foi apresentado no XXV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica (CBEB 2016), realizado na cidade de Foz do Iguaçu, Paraná, de 17 a 20 de outubro de 2016.

# Fusão de Imagens Multifocais em Imagens Baciloscópicas de Campo Claro

Kely M. B. Pinto, Cícero F. F. Costa Filho, Marly G. F. Costa

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica (PPGEE) Centro de P&D em Tecnologia Eletrônica e da Informação (CETELI) Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

kelymacielbp@gmail.com, {ccosta, mcosta}@ufam.edu.br

**Resumo** – O maior desafio para aplicações que utilizam imagens microscópicas, como por exemplo, a baciloscopia automática, é a impossibilidade de adquirir uma imagem completamente em foco. Este artigo desenvolve uma técnica de fusão de imagens multifocais aplicada em imagens baciloscópicas de campo claro. O método desenvolvido inclui cinco passos: primeiro, separar os componentes RGB das imagens coloridas; logo após, aplicar a transformada *wavelet* discreta; em seguida, utilizar um método fusão de imagens para originar novos coeficientes *wavelets*; após isso, aplicar a transformada *wavelet* discreta inversa; e, finalmente, concatenar os componentes RGB e assim, gerar a imagem final. As imagens resultantes do processo foram analisadas através de duas medidas de qualidade: variância e entropia. A variância mostrou um aumento na qualidade das imagens em 97.5% dos casos analisados, enquanto que a medida de entropia obteve um aumento em 100% dos casos. Os resultados mostram que a fusão de imagens multifocais em imagens baciloscópicas de campo claro pode contribuir para o avanço em pesquisas de baciloscopia automática.

Palavras-chave: fusão de imagens, imagens multifocais, foco estendido, baciloscopia.

## 1. Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa e transmissível que afeta prioritariamente os pulmões. Atualmente, mesmo com métodos adequados de diagnóstico (baciloscopia direta do escarro e cultura, por exemplo) e esquemas de tratamento com drogas específicas, capazes de curar a maior parte dos casos, a TB ainda persiste como uma das doenças transmissíveis mais mortais do mundo. Segundo a Organização Mundial de Saúde [1], estima-se que em 2013, 9,0 milhões de pessoas desenvolveram TB e 1,5 milhões morreram em decorrência da doença. Dado que a maioria das mortes por TB são evitáveis, o número de mortos pela doença ainda é elevado, sendo necessário acelerar os esforços para combatê-la.

A baciloscopia de campo claro consiste na pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes em esfregaços de amostras clínicas, como o escarro, corados preparados e com metodologia padronizada. No entanto, ela é fortemente dependente da proficiência do profissional que o realiza. Dessa forma, um dos esforcos que vem sendo realizado nos últimos anos na meta do combate a TB são pesquisas a respeito da baciloscopia automatizada. Atualmente, pesquisas em baciloscopia automatizada apresentam, em seus melhores resultados, uma identificação de bacilos com sensitividade de 96.8% e taxa de erro de 3.38% [2].

Entretanto, um dos problemas fundamentais que afeta a baciloscopia automatizada se origina a partir de amostras mais espessas do que a profundidade de campo da lente objetiva do microscópio. Imagens adquiridas nestas circunstâncias apresentam o efeito borrado introduzido por objetos que estão fora do plano em foco, afetando a precisão da segmentação de imagens e medição [3]. Em [4], esse problema foi abordado a partir da utilização de técnicas de fusão de imagens multifocais.

A fusão de imagens multifocais é o processo de combinar as informações de um conjunto de duas ou mais imagens para gerar apenas uma imagem contendo as informações mais relevantes do conjunto. O resultado é uma imagem em que todos os objetos estão em foco. Vários métodos vêm sendo propostos neste sentido nos últimos anos [4, 5, 6].

Zhi-Guo *et al.* [5] apresentaram um algoritmo para fusão de imagens multifocais baseado na transformada *wavelet*. A transformada *wavelet* é aplicada para cada imagem de entrada. Para a fusão em baixa frequência, é utilizado um filtro de aproximação passa-baixa para a obtenção do novo valor do pixel. O filtro pode ser implementado através do cálculo da média dos coeficientes *wavelets* das imagens multifocais. Já na fusão em alta frequência, o coeficiente *wavelet* é obtido considerando-se cada *pixel* como o centro de uma janela de  $3\times3$  ou  $5\times5$ , calculando-se a soma dos valores absolutos dos coeficientes *wavelets* e escolhendo o coeficiente máximo, dentre esses. Nos experimentos, os autores aplicaram a fusão de imagens, baseada em *wavelets* e também baseada em técnicas no domínio espacial. Ao comparar os resultados, os autores concluíram que a fusão baseada em *wavelets* apresenta o melhor desempenho.

Xie et al. [6] propuseram um método de fusão de imagens baseado em wavelets complexas. A metodologia aplicada consistiu em selecionar os valores máximos para os coeficientes em cada subbanda, para coeficientes de alta frequência e, para baixa frequência, uma metodologia de média ponderada é utilizada. Para medir a qualidade das imagens fundidas, os autores utilizaram parâmetros como média, Desvio-padrão, entropia, coeficientes de correlação, erro médio quadrático e comparam as imagens resultantes do método proposto por eles com as imagens resultantes de outros métodos: fusão utilizando transformadas wavelet com números reais, variância e Sobel. O método proposto pelos autores mostrou os melhores resultados.

Song *et al.* [4] apresentam o desenvolvimento de método baseado em *wavelets* para fusão de imagens multifocais e sua aplicação em imagens microscópicas. Os autores, propõem a extração dos coeficientes com valores máximos de gradiente e medem o nível de atividade dos coeficientes. Assim, os coeficientes da imagem fundida combinam valores de gradiente máximos e maiores níveis de atividade. Realizando a comparação entre o método proposto e os métodos comumente utilizados para fusão, através da análise por meio da razão sinal ruído de pico, os autores comprovaram que o método proposto por eles é superior aos demais.

Neste artigo, endereça-se a necessidade de obtenção de imagens baciloscópicas com foco estendido a partir da implementação de técnica de fusão de imagens multifocais utilizando *wavelets*, com vistas a contribuir com o aumento da taxa de detecção automática de bacilos em imagens baciloscópicas de campo claro. A qualidade das imagens com a profundidade de campo estendida será avaliada através de métricas como a variância, e entropia.

# 2. Materiais e Métodos

#### 2.1. Materiais

As imagens utilizadas neste projeto fazem parte de um banco de imagens de baciloscopia de campo claro, denominado *TbImages* [7]. As imagens são do tipo *true color* com 2816 x 2112 de dimensão. O processo de fusão multifocal foi aplicado a 40 campos microscópicos. Cada campo possuindo 10 imagens com distâncias focais diferentes, como ilustrado na Figura 1. Portanto, foram processadas 400 imagens no total. O resultado do processo de fusão gerou 40 imagens com foco estendido.



Figura 1. Exemplo de um conjunto de imagens de um campo com diferentes profundidades focais. Fonte: Costa *et al.* [7].

## 2.2. Fusão de Imagens Multifocais

A técnica de fusão de imagens baseada em *wavelets* foi implementada conforme ilustrado no diagrama de blocos da Figura 2 e descrito a seguir.



Figura 2. Diagrama em blocos da fusão multifocal baseada em *wavelets* 

**Obtenção de imagens componentes R, G e B -** as imagens componentes serão processadas separadamente.

**Aplicação da transformada** *wavelet* **discreta** (**DWT**) - a cada componente resultante do passo anterior. Foi utilizada a função *wavelet* de Daubechies (Db4) e 2 níveis de decomposição.

**Fusão das imagens multifocais -** realização da fusão dos coeficientes no domínio da transformada. O método utilizado é baseado no método proposto por Song *et al.* [4]. Para selecionar os "melhores" coeficientes, é realizada uma medida de atividade. O método de seleção de coeficientes considera o coeficiente *wavelet* amostrado e sua característica de gradiente local juntos.

Sendo  $W_{j,k}(m,n)$  o coeficiente *wavelet* de uma imagem (j é o nível de decomposição e k = 0, 1, 2, 3 são as quatro bandas de frequência), o gradiente local do coeficiente *wavelet*  $W_{j,k}(m,n)$  é definido como:

*Gradient*(
$$W_{j,k}(m,n)$$
) = *max*{ $|K_p^* W_{j,k}(m,n)|$ , p = 1-4} (1)

em que  $K_p$  são quatro operadores de gradiente direcionais. Como ilustrado na Figura 3.

A medida de atividade combina o coeficiente *wavelet* amostrado no ponto (m,n) e a característica de gradiente local do coeficiente. Assim, a medida de atividade é definida como:

$$A(W_{j,k}(m,n)) = Gradient(W_{j,k}(m,n)).|W_{j,k}(m,n)|$$
(2)

Para simplificação, vamos considerar  $W_{j,k}(m,n)$ = W, assim, o método de fusão de imagens, baseado na medida de atividade, é expresso por (no caso de dez imagens):

$$\begin{split} W^{\text{out}} &= \\ \begin{cases} W^1 & (A(W^1) > A(W^2)) \dots (A(W^1) > A(W^{10})) \\ W^2 & (A(W^2) > A(W^1)) \dots (A(W^2) > A(W^{10})) \\ W^3 & (A(W^3) > A(W^1)) \dots (A(W^3) > A(W^{10})) \\ & & \\ & & \\ & & \\ & & \\ W^9 & (A(W^9) > A(W^1)) \dots (A(W^9) > A(W^{10})) \\ W^{10}, \text{ caso contrário} \end{split}$$



Figura 3. Operadores de gradiente direcionais.

Aplicação da transformada *wavelet* discreta inversa (IDWT) - após a fusão dos coeficientes *wavelets*, aplica-se a IDWT para gerar os componentes RGB da imagem final.

Concatenação dos componentes R, G e B - a fusão é finalizada realizando-se a concatenação dos componentes resultantes, gerando a imagem de foco estendido.

### 2.3. Método de Análise dos Resultados

Para análise, foram utilizadas duas medidas de qualidade: variância,  $S^2$ , (Eq. 4) e entropia, E, (Eq. 5). Almir *et al.* [8], demostraram que as duas melhores métricas de foco para imagens baciloscópicas de campo claro são respectivamente a variância e a entropia. Quanto maior o valor para as respostas destas funções, mais focalizada a imagem se encontra. Estas medidas são descritas a seguir:

$$S^{2} = \frac{1}{MN} \sum_{i,j} (g(i,j) - \bar{g})^{2}$$
 (4)

$$E = -\sum_{i=0}^{\infty} P(i) \log_2 P(i)$$
(5)

em que M e N são as dimensões da imagem, g(i,j) representa a intensidade de cada pixel,  $\overline{g}$  o nível de cinza médio, P(i) é a probabilidade da intensidade i ocorrer na imagem e L é a profundidade da imagem (por exemplo, para imagens de 8 bits, L= 255).

# 3. Resultados

A Figura 4 apresenta uma comparação entre as imagens resultantes do processo de fusão (foco estendido) e as imagens em foco, do banco *TBImages*, com respeito as métricas utilizadas. As imagens com foco estendido apresentaram maior variância em 97.5% dos casos e maior entropia em 100% dos casos.

A figura 5 apresenta um exemplo de uma imagem em foco e a respectiva imagem de foco estendido nas quais os bacilos estão assinalados. Observa-se na imagem de foco estendido que novos bacilos são identificados.

# 4. Conclusões

Neste trabalho, uma técnica de fusão de imagens multifocais foi aplicada em imagens de baciloscopia de campo claro utilizadas para o diagnóstico da tuberculose.

As medidas de qualidade aplicadas nas imagens resultantes foram a variância e entropia. Os resultados mostraram que 97.5% das imagens apresentaram um incremento da qualidade quando analisadas através da variância, enquanto que através da entropia, os resultados mostraram aumento em 100% dos casos, indicando que este processo contribui para que a imagem resultante possua as informações mais relevantes de todas as 10 imagens do conjunto de entrada, inclusive da imagem em foco do banco *TBImages*. Como consequência deste estudo, é esperado um aumento na taxa de detecção automática de bacilos em relação às pesquisas atualmente desenvolvidas.

Como trabalhos futuros, pretende-se analisar o processo de fusão de imagens multifocais comparando-se outras técnicas disponíveis na literatura.

#### Agradecimentos

Parte dos resultados apresentados neste trabalho foram obtidos através do Projeto de pesquisa e formação de RH, em nível de graduação e pós-graduação, nas áreas de automação industrial, *softwares* para dispositivos móveis e TV Digital, financiado pela Samsung Eletrônica da Amazônia Ltda., no âmbito da Lei no. 8.387 (art.2°)/91. A construção do banco *TBImages* teve o suporte financeiro FAPEAM, SUFRAMA e FINEP (proc.  $n^{\circ}$ . 062.00575/2014).



Figura 4. Avaliação comparativa da qualidade da imagem de foco estendido em relação as imagens em foco, segunda as seguintes métricas: (a) variância, (b) entropia.



Figura 5. Exemplo de (a) imagem em foco (*Tbimages*) e (b) a correspondente imagem de foco estendido.

## Referências

- [1] OMS. Global tuberculosis report 2014. http://apps.who.int/iris/bitstream/1 0665/137094/1/9789241564809\_eng.pdf? ua=1 (acessado em 26/08/2015).
- [2] Cícero. F. F. Costa Filho, Pamela C. Levy, Clahildek de M. Xavier, Luciana. B. M. Fujimoto and Marly G. F. Costa. Automatic identification of tuberculosis mycobacterium. Research on Biomedical Engineering, v. 31, pages 33-43, 2015.
- [3] Kenneth R. Casttleman, Fatima A. Merchant, and Qiang Wu. Microscope Image Processing. Londres: Academic Press, 2008.
- [4] Yu Song, Mantian Li, Qingling Li, and Lining Sun. A New Wavelet Based Multi-focus Image Fusion Scheme and Its Application on Optical Microscopy. In *Robotics and Biomimetics*, *ROBIO '06. IEEE International Conference on*, Kunming, pages 401 – 405, 2006.
- [5] Jiang Zhi-guo, Han Dong-bing, Chen Jin, Zhou Xiao-kuan. A wavelet based algorithm for multi-focus micro-image fusion. In *Image and Graphics (ICIG'04), Third International Conference on*, pages 176 – 179, 2004.
- [6] Hui Xie, Weibin Rong, Lining Sun. Wavelet-Based Focus Measure and 3-D Surface Reconstruction Method for Microscopy Images. In Intelligent Robots and Systems, 2006 IEEE/RSJ International Conference on, Beijing, pages 229 – 234, 2006.
- [7] Marly G. F. Costa, Luciana. B. M. Fujimoto, and Cícero. F. F. Costa Filho. Viabilizando o benchmark de técnicas de detecção automática de bacilos da tuberculose em imagens baciloscópicas de campo claro. Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica (CBEB), Uberlândia, 2014.
- [8] Almir K. Junior, Marly G. F. Costa, Cícero. F. F. Costa Filho, Luciana. B. M. Fujimoto. Evaluation of autofocus functions of conventional sputum smear microscopy for tuberculosis. In 32nd Annual International Conference of the IEEE EMBS, Buenos Aires, Argentina, pages 3041 – 3044, 2010.

# AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE FUSÃO DE IMAGENS MULTIFOCAIS APLICADOS A IMAGENS BACILOSCÓPICAS DE CAMPO CLARO UTILIZADAS NO DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE

K. M. B Pinto\*, M. G. F. Costa\*, L. B. M. Fujimoto\*\*, M. M. Ogusku\*\*\* e C. F. F. Costa Filho\*

\*Centro de P&D de Tecnologia Eletrônica e da Informação, CETELI – UFAM, Manaus-AM, Brasil
 \*\*Faculdade de Medicina – UFAM, Manaus-AM, Brasil
 \*\*\*Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus-AM, Brasil
 e-mail: kelymacielbp@gmail.com

Resumo: O melhor método para fusão de imagens multifocais é estabelecido dependendo da aplicação para qual é usado. Este artigo avalia diferentes técnicas de fusão de imagens multifocais em imagens baciloscópicas de campo claro para diagnóstico da tuberculose. As técnicas de fusão utilizadas foram: seleção do pixel de maior valor; cálculo da frequência espacial; combinação dos coeficientes wavelet e o gradiente local desses coeficientes; seleção dos coeficientes wavelet máximos ou mínimos; e seleção dos coeficientes curvelet com maiores valores em cada posição, orientação e escala. O desempenho de cada técnica foi mensurado segundo as seguintes métricas de qualidade: Variância, Edge Information Preservation e Average Universal Quality Index. O método de fusão no domínio espacial com seleção do pixel de maior valor produziu os melhores resultados.

**Palavras-chave:** Fusão de imagens, imagens multifocais, baciloscopia de campo claro, tuberculose

Abstract: The best method for multi-focus image fusion changes from task to task. This work investigates several techniques applied to optical sputum smear microscopic images. The techniques used were - a rule of maximum pixel value selection; - the use of spatial frequency; combination of the sampling wavelet coefficient and its local gradient features; - a rule of maximum or minimum wavelet coefficient selection; and - absolute value selection rule of curvelet coefficient. The performance of each technique was evaluated through the following quality metrics: Variance, Edge Information Preservation and Average Universal Quality Index. The results showed that the method in spatial domain with a rule of maximum pixel value selection yields the best results.

**Keywords:** Image fusion, multi-focus images, optical sputum smear microscopic images, tuberculosis

#### Introdução

Aplicações automatizadas em imagens microscópicas, como por exemplo a baciloscopia automatizada [1], enfrentam um problema, inerente a este tipo de imagem, que é o efeito borrado introduzido por objetos que estão fora do plano em foco, afetando a precisão da segmentação de objetos e demais tarefas de análise de imagem [2]. Nesse contexto, ressalta-se a importância da utilização de técnicas de fusão de imagens multifocais para contornar este problema.

A fusão de imagens multifocais pode ser definida como o processo de combinar as informações de um conjunto de duas ou mais imagens em uma única imagem em que todos os objetos estão em foco. Em microscopia, geralmente os métodos exploram imagens multifocais (adquiridas ao longo do eixo óptico, eixo z, do microscópio) visando a obtenção de uma imagem de foco estendido.

Os métodos de fusão existentes na literatura podem ser classificados em dois grandes grupos, em função do domínio em qual trabalham: domínio espacial e domínio da frequência. Os métodos que trabalham no domínio espacial geralmente são computacionalmente mais simples e podem ser usados em aplicações de tempo real [3]. Além disso, a facilidade de uso os tornam bastante atrativos, por isso, diversos trabalhos desenvolvidos neste domínio vêm sendo publicados [3, 4, 5]. Os métodos que trabalham no domínio da frequência assumem a hipótese de que as imagens mais em foco contêm mais detalhes e, portanto, mais componentes de alta frequência. Apesar de serem computacionalmente mais complexos, em algumas aplicações, superam os métodos que trabalham no domínio espacial [5]. Dessa forma, muitos trabalhos vêm sendo desenvolvidos também no domínio da frequência [6, 7, 8].

Apesar de existirem diversos métodos para fusão de imagens multifocais, estudos em percepção indicam que a melhor estratégia de fusão depende da aplicação para qual a estratégia é aplicada [9]. Assim, o melhor método muda de aplicação para aplicação [10].

Neste artigo, endereça-se a necessidade de avaliar diferentes técnicas de fusão de imagens multifocais, com vistas a definir, a melhor técnica de fusão para obtenção de imagens onde o maior número possível de bacilos esteja em foco. Este fator é de grande importância para viabilização da baciloscopia automatizada.

# Técnicas de fusão de imagens multifocais e métricas de desempenho

Detalhes das cinco técnicas de fusão multifocal avaliadas são apresentadas a seguir. As duas primeiras correspondem a técnicas no domínio espacial, enquanto que as três últimas são implementadas no domínio da frequência. Ressalta-se que nenhuma dessas técnicas foram empregadas originalmente na obtenção de imagens de foco estendido em microscopia de campo claro para diagnóstico da tuberculose.

1) Fusão através da seleção do *pixel* de maior valor (PMV) - Piccinini *et al.* [5]. Nessa técnica, inicialmente, aplica-se um filtro para detecção de bordas associado a um filtro de média para redução de ruídos; a seguir é realizada a identificação das regiões em foco, através da seleção do *pixel* de maior intensidade no eixo z. Nesse passo é criado um mapa de profundidade que armazena o número da fatia (no eixo z) correspondente à máscara derivativa que contém o valor máximo; filtra-se, então, o mapa de profundidade através de um filtro majoritário, com o intuito de promover a continuidade dos valores de *pixels* que são adjacentes. Uma imagem final é construída através do mapa de profundidade, copiando-se a intensidade do *pixel* da imagem original de acordo com a posição no eixo z apontada pelo mapa.

2) Fusão através do cálculo da frequência espacial (FRE) - Li *et al.*[3]. Primeiramente, é realizada a decomposição das imagens de entrada em blocos de tamanhos fixos; a seguir, calcula-se a frequência espacial de cada bloco; a partir daí, faz-se a comparação da frequência espacial de cada bloco (no eixo z) e constrói-se os blocos da imagem de foco estendido utilizando os blocos das imagens originais que possuem a maior frequência espacial; por fim, aplica-se um filtro majoritário para se obter a imagem fundida.

3) Combinação dos coeficientes *wavelet* com o gradiente local (WGL) - Song *et al.* [6]. O algoritmo inicia com a aplicação da Transformada *Wavelet* Discreta às imagens de entrada; o segundo passo é a realização do cálculo do gradiente local dos coeficientes *wavelet*; a seguir, realiza-se a medida de atividade, combinando os coeficientes *wavelet* no ponto amostrado (m,n) e o respectivo gradiente neste ponto; a seleção dos coeficientes da imagem final é feita identificando-se os que possuem os maiores níveis de atividade (no eixo z) dentre os coeficientes das imagens originais; aplica-se a Transformada *Wavelet* Discreta Inversa para se obter a imagem fundida final.

4) Aplicação da Transformada Wavelet Estacionária e seleção dos coeficientes máximos ou mínimos (EMM) - Liu *et al.* [7]. Inicialmente, aplica-se a Transformada Wavelet Estacionária às imagens de entrada; em seguida realiza-se a seleção dos coeficientes para a imagem fundida resultante. A seleção é realizada escolhendo-se os de valor máximo (no eixo z) para os coeficientes de detalhe e os de valor mínimo (no eixo z) para os coeficientes de aproximação; para finalizar, aplica-se a Transformada Wavelet Estacionária Inversa, obtendo-se a imagem fundida resultante.

5) Utilização da Transformada *Curvelet* e seleção dos coeficientes com maiores valores (CSM) - Tessens *et al.* [8]. O primeiro passo do método corresponde a decomposição das imagens de entrada em coeficientes *curvelet* complexos através da aplicação da Transformada *Curvelet*; para cada posição, orientação e

escala, escolhe-se os coeficientes *curvelet* com maior valor absoluto (no eixo z); e, por fim, aplica-se a Transformada *Curvelet* Inversa para obtenção da imagem final.

Métricas de Desempenho - De forma geral, a quantificação de quão eficiente é um método de processamento de imagem, é relativa, ou seja, a avaliação pressupõe a existência de uma imagem "referência" para comparação. Entretanto, na fusão de imagens multifocais, nem sempre é possível dispor dessa imagem "ideal". Isso é especialmente verdade para imagens de microscopia, como as manipuladas nesse trabalho. É mister, portanto a utilização de métricas de qualidade que não necessitem de uma imagem de referência como parâmetro. Após pesquisa bibliográfica e análise minuciosa foram elencadas e utilizadas três medidas de qualidade: Variância [11]; Edge Information Preservation (EIP) [12]; e Average Universal Quality Index (AUOI) [5].

A primeira delas, a variância, é uma medida de foco. Almir *et al.* [11] demostraram que a variância é a melhor métrica de foco para imagens baciloscópicas de campo claro. Quanto maior o valor para a resposta desta função, mais focalizada a imagem se encontra. A variância, *Var*, é descrita a seguir:

$$Var = \frac{1}{MN} \sum_{m,n} (g(m,n) - \bar{g})^2$$
(1)

 $M \in N$  são as dimensões da imagem, g(m,n) a intensidade de cada pixel e  $\overline{g}$  o nível de cinza médio.

A métrica EIP mede a quantidade de informações de bordas que é transferida das imagens de entrada para a imagem fundida. Considere duas imagens,  $I_1$  e  $I_2$ , e uma imagem resultante da fusão, F, a EIP é definida como:

$$EIP = Q^{l_1 l_2/F} = \frac{\sum_{m=1}^{M} \sum_{n=1}^{N} Q^{l_1 F}(m,n) w^{l_1}(m,n) + Q^{l_2 F}(m,n) w^{l_2}(m,n)}{\sum_{m=1}^{M} \sum_{n=1}^{N} (w^{l_1}(m,n) + w^{l_2}(m,n))}$$
(2)

 $Q^{I_1F}(m,n)$  e  $Q^{I_2F}(m,n)$  são as informações de preservação de bordas em *F* em relação às imagens  $I_1 \in I_2$ respectivamente, para as quais são definidos os pesos  $w^{I_1}(m,n)$  e  $w^{I_2}(m,n)$ [12]. Os valores possíveis para  $Q^{I_1I_2/F}$  estão no intervalo entre 0 e 1, sendo o valor 0 atribuído à completa perda de informações de bordas e 1 à total transferência de informações das imagens originais à imagem *F*. Ressalta-se que esta métrica pode se estender facilmente para entradas de mais de duas imagens.

A métrica AUQI é baseada na métrica *Universal Quality Index* (UQI). Wang *et al.* [13] demonstraram que a UQI, definida na equação (3), é um índice de representação da qualidade da imagem que se assemelha à percepção visual humana.

$$UQI(R,F) = \left(\frac{\sigma_{RF}}{\sigma_R \sigma_F}\right) \left(\frac{2\bar{x}_R \bar{x}_F}{\bar{x}_R^2 + \bar{x}_F^2}\right) \left(\frac{2\sigma_R \sigma_F}{\sigma_R^2 + \sigma_F^2}\right)$$
(3)

Sendo *R* uma imagem de referência "ideal",  $\bar{x}_R$ ,  $\bar{x}_F$ ,  $\sigma_R$ ,  $\sigma_F$  e  $\sigma_{RF}$  são média, Desvio-padrão e covariância das imagens *R* e *F*, respectivamente. Entretanto, como esta

métrica requer a utilização de uma imagem de referência, não se adequa a imagens multifocais de microscopia.

Para superar este problema, a métrica AUQI foi proposta como uma extensão da métrica UQI, equação (4), utilizando as imagens originais no lugar de uma imagem de referência.

$$AUQI(I_1, \dots I_Z, F) = \frac{1}{Z} \sum_{n=1}^Z UQI(I_n, F)$$
(4)

Z é o número de fatias de diferentes profundidades focais (no eixo z). Nesta métrica, quanto menor o valor, melhor é a qualidade da imagem.

#### Materiais e Métodos

Materiais - Foram utilizadas imagens microscópicas de campo claro de esfregaços baciloscópicos. A utilização das amostras de secreção dos pacientes foi previamente aprovada, sem restrições, pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (protocolo 186/08). As imagens foram adquiridas através de um microscópio Zeiss Axio Imager M2 à objetiva de 100x, com o auxílio do software ZEN 2 Pro. A lâmina utilizada para captura foi corada através do método de Kinyoun, que corresponde ao método Ziehl-Neelsen a frio. Foram adquiridas imagens de 164 campos digitais possuindo, em cada campo, 11 fatias de diferentes profundidades focais (ao longo do eixo z) com distância de 0,52 µm. Os 164 conjuntos de 11 fatias totalizam 1804 imagens true color de 1388×1040 pixels. A Figura 1 apresenta um exemplo de uma dessas imagens.



Figura 1: Exemplo de imagem de campo baciloscópico adquirida em uma das 11 profundidades focais.

Métodos de fusão de imagens – As cinco técnicas de fusão de imagens multifocais apresentadas na seção anterior foram implementadas através do ambiente de desenvolvimento MATLAB<sup>®</sup>, versão R2015a, e testadas nos 164 conjuntos de imagens adquiridos. A avaliação de desempenho foi realizada através das métricas igualmente apresentadas na seção anterior.

Os parâmetros utilizados na implementação de cada técnica foram: filtro de média de  $15 \times 15$  e filtro majoritário de  $5 \times 5$  no método PMV; blocos de tamanho  $8 \times 4$ , limiar de  $5 \times 10^4$  e filtro majoritário de  $3 \times 3$  no FRE; função *wavelet* db4 e 2 níveis de decomposição para

WGL; função *wavelet* sym5 e 2 níveis de decomposição para EMM; e 8 níveis de decomposição para CSM.

#### Resultados

Na Figura 2 apresenta-se o desempenho dos métodos de fusão implementados e testados (PMV, FRE, WGL, EMM, CSM), segundo as métricas de qualidade: Variância, EIP e AUQI. Para cada um dos 164 conjuntos de imagens foram obtidas 5 imagens de foco estendido, uma para cada técnica.

A Tabela 1 reúne os valores médios relativos aos apresentados nos gráficos da Figura 2, bem como apresenta o *ranking* dos métodos, segundo as três métricas. A Figura 3 ilustra o efeito de melhoria na definição dos bacilos obtida com um processo de fusão. A Figura 3(a) apresenta uma região de 73x41 pixels contendo bacilos, retirada de uma imagem original (a mais em foco dentre as 11 de um dado campo) e a Figura 3(b) apresenta a respectiva região de uma imagem processada, através da técnica PMV. Os valores de Variância calculados atestam a melhoria da qualidade de foco da imagem processada.

#### Discussão

Ao analisar a Tabela 1, pode-se observar que o método WGL obteve os melhores resultados para as métricas de variância e AUQI, entretanto, quando avaliado pela métrica EIP, mostrou-se o último no ranking. Esta análise indica que este método possui um bom resultado para quantidade de foco e índice de percepção visual, todavia, pouco preserva informações de bordas das imagens originais. Em contrapartida, o melhor método avaliado pela EIP foi o PMV. Observa-se também que este método apresentou a melhor combinação de posicionamento no ranking das três métricas. Assim, dentre os métodos testados o PMV apresenta-se como o de melhor desempenho para fusão imagens multifocais aplicados a de imagens microscópicas de bacilos.

#### Conclusão

A baciloscopia direta continua tendo papel relevante no diagnóstico da tuberculose pulmonar, pois permite descobrir as fontes de infecção mais contagiantes. No entanto, essa técnica padece com problemas de variabilidade intra e interobservador, tornando a busca por um método automático de extrema relevância. Um método de fusão de imagens associado a técnicas de detecção e contagem de bacilos nos campos baciloscópicos viabilizará a baciloscopia automática. Dentro desse contexto, neste trabalho, diferentes técnicas de fusão de imagens multifocais foram aplicadas a imagens microscópicas de campo claro de bacilos da tuberculose e avaliadas quantitativamente através de métricas de qualidade. O método de melhor desempenho foi a fusão através da seleção do pixel de maior valor (PMV), desenvolvido no domínio espacial, sendo este preferível para utilização no desenvolvimento de aplicações em imagens baciloscópicas de campo claro.



Figura 2: Desempenho das técnicas de fusão segundo as métricas: (a) Variância, (b) EIP, (c) AUQI.

Tabela 1: Média das métricas de qualidade e *ranking* dos métodos.

Método	Variância		EIP		AUQI	
	Média	Rank	Média	Rank	Média	Rank
PMV	0.1084	3°	0.3776	1°	0.7966	2°
FRE	0.1114	2°	0.2997	3°	0.8052	3°
WGL	0.1202	1°	0.2608	5°	0.7204	1°
EMM	0.1057	5°	0.2673	4°	0.8909	5°
CSM	0.1079	4°	0.3462	2°	0.8146	4°



Figura 3: Região contendo bacilos extraída da imagem de um campo: (a) imagem original (Variância=0,1415), (b) imagem processada (Variância=0,1445)

#### Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPEAM, Processo no.062.00575/2014-PROTI-PESQUISA, e a Samsung

Eletrônica da Amazônia Ltda., através do Projeto de pesquisa e formação de RH, em nível de graduação e pósgraduação, no âmbito da Lei no. 8.387 (art.2°)/9, pelo suporte financeiro.

#### Referências

- Costa Filho CFF, Levy PC, Xavier CM, Fujimoto LBM, Costa MGF. Automatic identification of tuberculosis mycobacterium. Research on Biomedical Engineering. 2015; 31(1):33-43.
- [2] Casttleman KR, Merchant FA, Wu Q. Microscope image processing. 1st ed. London: Academic Press; 2008.
- [3] Li S, Kwok JT, Wang Y. Combination of images with diverse focuses using the spatial frequency. Information Fusion. 2001; 2:169-176.
- [4] Li M, Dong Y. Review on technology of pixel-level image fusion. In: Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Conference on Measurement, Information and Control; 2013 Aug 16-18; Harbin, China. 2013 p. 341-4.
- [5] Piccinini F, Tesei A, Zoli W, Bevilacqua A. Extended depth of focus in optical microscopy: assessment of existing methods and a new proposal. Microscopy Research and Technique. 2012; 75:1582-1592.
- [6] Song Y, Li M, Li Q, Sun L. A new wavelet based multi-focus image fusion scheme and its application on optical microscopy. In: Proceedings of the 2006 IEEE International Conference on Robotics and Biomimetics; 2006 Dec 17-20; Kunming, China. 2006 p. 401-5.
- [7] Liu Y, Yu F. An automatic image fusion algorithm for unregistered miltiply multi-focus images. Optics Communications. 2015; 341:101-113.
- [8] Tessens L, Ledda A, Pizurica A, Philips W. Extending the depth of field in microscopy through curvelet-based frequency-adaptive image fusion. In: Proceedings of the 2007 IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing; 2007 Apr 15-20; Viena, Austria. 2007 p. I-861-4.
- [9] Toet A, Franken EM. Perceptual evaluation of different image fusion schemes. Displays. 2003; 24(1):25-37.
- [10] Hassen R, Wang Z, Salama MMA. Objective quality assessment for multiexposure multifocus image fusion. IEEE Transactions On Image Processing. 2015; 24(9):2712-2724.
- [11] Kimura Junior A, Costa MGF, Costa Filho CFF, Fujimoto LBM, Salem J. Evaluation of autofocus functions of conventional sputum smear microscopy for tuberculosis. In: Proceedings of the 32nd Annual International Conference of the IEEE EMBS; 2010 Aug 31 – Sep 4; Buenos Aires, Argentina. 2010 p. 3041-4.
- [12] Xydeas CS, Petrovic V. Objective image fusion performance measure. Electron Letter. 2000; 36(4):308-309.
- [13] Wang Z, Bovik AC. A universal image quality index. IEEE Signal Process Letters. 2002; 9(3):81-84