

Automação e Auxílio ao Diagnóstico de Tuberculose em Baciloscopia

Bruna. V. Colnago¹, João.V.R. Maia¹, Mariella Berger¹, Saulo Bortolon¹, Magnos Martinello¹, Klaus. F. Côco^{2,3}

¹Departamento de Informática, CT – Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)
Av. Fernando Ferrari, s/n, 29.075-910 – Vitória – ES – Brasil

²PPG Engenharia Elétrica – Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) – Vitória – ES – Brasil

³Faculdade Brasileira – UNIVIX – Vitória – ES – Brasil

{brunacolnago, joaovrmaia}@gmail.com,
{mberger, bortolon, magnos}@inf.ufes.br, klaus@ele.ufes.br

Abstract. *This paper describes work-in-progress on computer-supported diagnosis of tuberculosis through Baciloscopia. The following automated procedure is used: (a) acquisition of image stacks taken at different focal depths in various XY slide positions in an automated microscope, (b) images transmission to a cluster, (c) application of deconvolution algorithms to reduce the point-spread function effect of the light microscope, (d) application of segmentation algorithms for selection of images with bacilli suggestive structures. The result obtained by the automated process is finally presented to the specialist for a definitive diagnosis.*

Resumo. *Este artigo descreve um trabalho em andamento sobre auxílio computacional ao diagnóstico de Tuberculose através de Baciloscopia. Para tal, utiliza-se o seguinte processo automatizável: (a) aquisição de pilhas de imagens em diferentes profundidades focais colhidas em diversas posições XY de uma lâmina em microscópio automatizado, (b) transmissão de imagens para um cluster, (c) aplicação de algoritmos de deconvolução para diminuir o efeito da função espalhamento do microscópio, (d) aplicação de algoritmos de segmentação para seleção de imagens que possuam estruturas sugestivas de bacilos. O resultado obtido pelo processo automatizável é por fim apresentado ao especialista para diagnóstico definitivo.*

1. Introdução

A tuberculose (TB) é uma das principais causas de doença e morte no mundo [World Health Organization 2009] e seu diagnóstico é feito identificando-se o bacilo de Koch. Por ser barata e ter resultado imediato, a baciloscopia é o método diagnóstico mais utilizado. No entanto, sua sensibilidade é relativamente baixa, obrigando a pesquisar muitos campos por lâmina e tomando muito tempo dos laboratoristas [Steingart et al 2006]. Assim, um método computacional que reduzisse o número de campos negativos analisados pelo especialista aumentaria a produtividade.

Neste projeto desenvolve-se um método automático de auxílio ao diagnóstico de TB que tem como objetivo o aumento da produtividade e a sensibilidade da baciloscopia.

Microscópios automatizados capturam imagens de diferentes posições e profundidades focais da lâmina. As imagens são enviadas a um grupo de computadores que processam as imagens e selecionam apenas aquelas que são sugestivas de TB. Estas são armazenadas e posteriormente confirmadas por um especialista. A seleção das fotos é feita pela cor e formato dos bacilos, via algoritmos de segmentação. No entanto, devido a características do processo de aquisição, as fotos não correspondem exatamente à amostra, contendo ruídos e distorções. Além disso, diferente do operador humano, que procura ativamente por imagens sugestivas de bacilos ajustando o foco do microscópio, este processo adquiri, em cada campo, um pilha de imagens espaçadas na profundidade focal. Um bacilo pode estar situado entre duas delas, aparecendo como uma estrutura fora de foco, exigindo um pré-processamento que diminua sua distorção. Isso pode ser realizado através de algoritmos de deconvolução [Wu, Merchant e Castleman 2008] que sempre possuem custo computacional muito elevado e que são adequados a implementações paralelo-distribuídas de alto desempenho.

Adquirir-se-ão de 5 a 15 imagens por segundo, que serão enviadas em modo produtor-consumidor para um conjunto dedicado de computadores através de aplicações que contam com implementações de protocolos na camada de transporte.

Este artigo apresenta uma breve revisão bibliográfica a respeito das tecnologias envolvidas e os resultados parciais obtidos neste trabalho.

2. Trabalhos Correlatos

Esta breve revisão se concentra nos seguintes tópicos: automação do diagnóstico de TB via baciloscopia, problemas e soluções na aquisição automatizada de imagens em microscopia, microscopia de seccionamento ótico e deconvolução.

2.1. Baciloscopia automatizada

Na baciloscopia, os bacilos de TB são procurados em um esfregaço feito a partir de uma amostra de secreção (catarro ou líquido pleural, por exemplo). Mais informações sobre seus princípios de funcionamento, o processo de coleta e armazenamento de amostras, o preparo das lâminas e a padronização de diagnóstico se encontram em [Ministério da Saúde 2008] e [Brett-Major e Walsh 2006]. Alguns trabalhos desenvolvidos na automação de baciloscopia podem ser encontrados em [Forero, Cristóbal e Alvarez-Borrego 2003] e [Hripcsak, Knirsch e Pablos-Mendez 1997]. Estes apontam o autofocus e a segmentação como sub-processos críticos.

2.2. Problemas e soluções em microscopia automatizada

O microscopista ajusta o foco quase intuitivamente de modo a manter as estruturas visualizadas nítidas. Em um microscópio automatizado isto pode ser feito através de técnicas de autofocus. Alguns mecanismos de autofocus são descritos por [Hilsenstein 2005] e [Russell e Douglas 2007]. No entanto, um esfregaço mal realizado, uma lâmina irregular ou não-horizontal irá sempre gerar imagens com partes focadas e outras não. Outra estratégia, analisada neste projeto, é realizar várias fotos em diferentes profundidades, em uma pilha, e formar posteriormente, em outro computador, uma imagem única reunindo as partes em foco de cada uma.

Devido ao grande volume de imagens geradas, é necessária uma aplicação que controle dinamicamente o fluxo de dados entre emissor e receptor. Visando evitar o atraso de escrita-leitura em disco rígido para o *buffer*, utiliza-se armazenamento em

memória (*ramdisk*) [Pneumatikos, Markatos, Maglis e Ioannidis 1998].

2.3. Microscopia de Seccionamento Óptico

A microscopia de seccionamento óptico consiste na obtenção da imagem de um objeto 3-D como uma pilha de imagens 2-D coletadas em diferentes planos focais. Os princípios de funcionamento desse método e as causas da degradação das imagens estão descritas em [Wu, Merchant e Castleman 2008] e [Hiraoka, Sedat e Agard 1990]. O problema da degradação pode ser resolvido via hardware através da utilização de um microscópio confocal [Conchello e Lichtman 2005]. Entretanto, os custos o tornam inadequado a este projeto. O problema pode ser diminuído através da utilização de um microscópio convencional (*widefield microscopy*) com restauração das fotos via deconvolução.

2.4. Técnicas de deconvolução

Os algoritmos de deconvolução consistem em, a partir da imagem degradada e de informações sobre o sistema óptico que a capturou, obter a melhor estimativa da imagem do objeto. As principais técnicas de deconvolução estão descritas em [Wu, Merchant e Castleman 2008], [Biggs 1998] e [Sarder e Nehorai 2006].

3. Resultados Parciais

A metodologia de obtenção de resultados consiste em efetuar campanhas de experimentação divididas em três fases.

A primeira fase verifica a eficiência da transmissão de dados entre emissor e receptor. Neste experimento, uma conexão é aberta entre duas máquinas conectadas através de uma rede local giga-ethernet. São executadas sequências de transferência de arquivos armazenados em memória e em disco rígido e seus tempos são comparados. A diferença deve se acentuar à medida em que o número de conexões aumentar.

A segunda fase consiste em transformar uma pilha de imagens em uma única imagem utilizando o CombineZP [Hadley 2009]. Este software busca entre todas as fotos as regiões com melhor qualidade focal e as reúne em uma única imagem. Alguns dos testes foram realizados com imagens obtidas de lâminas inclinadas e irregulares. Observou-se que o efeito de eventuais inclinações ou imperfeições pode ser diminuído.

A terceira fase consiste no uso de deconvolução para restaurar as imagens, facilitando a distinção dos bacilos. Os resultados mostram que o bacilo ficou mais nítido nas imagens resultantes da aplicação de deconvolução. Posteriormente, os resultados serão comparados com implementações de deconvolução em GPU em desenvolvimento.

4. Conclusão

Apresentamos trabalho em andamento sobre auxílio computacional ao diagnóstico de TB. Alguns módulos do processo de automatização já foram testados, como exemplo, o sistema de transferência de dados usando o protocolo TCP. Os softwares serão disponibilizados sob licença GPL e todas as imagens colhidas e os resultados obtidos estão acessíveis via web em [Berger 2009] para testes de outros grupos de pesquisa.

Este trabalho é resultado de pesquisas do Núcleo de Doenças Infeciosas, coordenado pelo Prof. R. Dietze, com financiamento da FINEP (Proj. 756/2007: TELEPAT-ES), da FAPES (T.032/2007) como parte do Projeto Software Livre em Saúde, Proc. 36354210/2007, e do FACITEC (Ed 05/2008) como parte do Projeto

Diagnóstico Automatizado de TB. Agradecemos às bolsistas Renata Peres e Maria Guimarães pelo excelente trabalho de preparação de lâminas e aquisição das imagens.

Referências

- Berger, M. (2009), Imagens de Baciloscopia, www.lprm.inf.ufes.br/telepat, Maio.
- Biggs, D. S. C. (1998) “Accelerated iterative blind deconvolution”, PhD thesis, New Zealand: University of Auckland, 1998, pp. 13 – 48.
- Brett-Major, D. M. e Walsh, T. E. (2006) “Laboratory Diagnosis of Tuberculosis in Primary Care”, *Disease-a-Month*, 52-11, pp. 450-458.
- Conchello, J. e Lichtman, J. W. (2005), “Optical sectioning microscopy”, *Nature Methods*, 2, pp. 920 – 931.
- Forero, M. G., Cristóbal, G. e Alvarez-Borrego, J. (2003) “Automatic identification techniques of tuberculosis bacteria”, *Applications of Digital Image Processing, XXVI Proceedings of the SPIE*, Santa Clara, pp. 71-81.
- Hadley, A. (2009), CombineZ - Frame Stacking - free software, <http://www.broadhurst-family.co.uk/lefteye/MainPages/combinez.htm>, Maio.
- Hilsenstein, V. (2005) “Robust Autofocusing for Automated Microscopy Imaging of Fluorescently Labelled Bacteria”, *Digital Image Computing: Techniques and Applications Proceedings*, DICTA-2005, Cairns-FR, pp. 95 – 10.
- Hiraoka, Y., Sedat, J. W. e Agard, D. A. (1990) “Determination of the three-dimensional imaging properties of an optical microscope system: partial confocal behavior in epifluorescence microscopy”, *Biophysical Journal*, 57-2, pp. 325-333.
- Hripcsak, G., Knirsch, C. A. e Pablos-Mendez, A. (1997) “Automated tuberculosis detection”, *Journal of the American Medical Informatics Association*, 4-5, pp. 376-381.
- Ministério da Saúde (2008) “Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Microbactérias”, pp. 127-178.
- Pneumatikos, D., Markatos, E. P. , Maglis, G. e Ioannidis, S. (1998), “On Using Network RAM as a non-volatile Buffer”, Technical report 227, <http://citeseer.ist.psu.edu/old/393567.html>
- Russell, M. J. e Douglas, T. S. (2007) “Evaluation of autofocus algorithms for tuberculosis microscopy”, *Engineering in Medicine and Biology Society, 29th Annual International Conference of the IEEE*, Lyon-FR, pp. 3489 – 3492.
- Sarder, P. e Nehorai, A. (2006) “Deconvolution methods for 3-D fluorescence microscopy images”, *Signal Processing Magazine*, 23-3 , pp. 32-45.
- Steingart, K. R. et all (2006) “Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review”, *The Lancet Infectious Diseases*, 6-9, pp. 570-581.
- World Health Organization (2009) “Global Tuberculosis Control: Surveillance, Planning, Financing”, http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008/en/index.html.
- Wu, Q., Merchant, F. e Castleman, K. R. (2008) “Microscope Image Processing”, United Kingdom, Elsevier Science & Technology, pp. 334-355.