

Sistema Autônomo de Reconhecimento e Contagem de Ovos de *Aedes aegypti*

André K. O. Tiba, Aluizio F. R. Araujo, Hansenclever F. Bassani, Tsang I. Ren

Universidade Federal de Pernambuco

{akot,aluizioa,hfb,tir}@cin.ufpe.br

Resumo – O monitoramento espaço-temporal da população do mosquito *Aedes aegypti* é de suma importância para as autoridades de saúde pública. A população do *Aedes* é estimada a partir da contagem de ovos capturados em armadilhas chamadas ovitrampas. A tarefa de contagem, realizada atualmente com auxílio do microscópio, é desgastante para quem a executa e sujeita a diversos tipos de erros. O Sistema Autônomo de Reconhecimento e Contagem de Ovos - SARCO, foi desenvolvido para efetuar tais contagens automaticamente, com maior precisão e de forma mais rápida. Redes neurais artificiais combinadas com técnicas de processamento de imagem e de estatística, foram aplicadas em imagens digitalizadas de palhetas de ovitrampas para contar o número de ovos contidos nas mesmas. A segmentação das imagens utilizou apenas informações sobre cores, e o número de ovos foi estimado a partir da área da imagem ocupada por ovos. Testes de validação utilizaram um conjunto de 18 imagens de ovitrampas com diferentes densidades de ovos, recolhidas junto aos programas de controle do vetor da dengue (SMTP-*Aedes*) nos municípios de Recife, Ipojuca e Santa Cruz do Capibaribe. Para este conjunto de dados, o SARCO obteve um erro de contagem da ordem de 12 %, bem inferior aos 18 % obtidos com microscópio. Todos os resultados foram validados estatisticamente através de testes de hipótese.

Palavras-chave – Redes Neurais Artificiais, Processamento de Imagem, Contagem Automática, Dengue.

Abstract – The space-time monitoring of *Aedes aegypti* population is very important important for the public health. The *Aedes* population is estimated from egg counting of traps named ovitrap. The task of counting, currently performed with microscope, is exhausting for anyone to perform, and it is subject to various types of errors. The Autonomous System for the Recognition and Egg Count - SARCO, was developed to automatically perform such counts, more accurately and quickly. Artificial neural networks combined with techniques of image processing and statistics were applied to count the number of eggs in digitized images of ovitrap's reeds. Image segmentation was applied using only color information, and the number of eggs was estimated from the image area occupied by eggs. Validation tests used a set of 18 pictures of ovitraps with different egg densities, collected from programs of dengue vector (*Aedes*-SMTP) in the cities of Recife, Ipojuca and Santa Cruz do Capibaribe. For this data set, SARCO obtained a counting error around 12 %, well below the 18 % error obtained by professionals counting with microscope. All results were statistically validated through hypothesis testing.

Keywords – Artificial Neural Networks, Image Processing, Automatic Counting, Dengue.

1. INTRODUÇÃO

O combate do vírus da Dengue ocorre em diversas frentes. Uma delas, é através do controle e monitoramento do seu vetor de transmissão, o mosquito *Aedes aegypti*. Na cidade do Recife, um programa piloto de controle populacional deste vetor chamado de Sistema de Monitoramento e Controle Populacional do Vetor da Dengue (SMTP-*Aedes*) foi desenvolvido em seis bairros da cidade. Recentemente, o SMTP-*Aedes* foi expandido para monitoramento e controle em dois outros municípios pernambucanos, Ipojuca e Santa Cruz do Capibaribe [1].

O controle do *Aedes aegypti* se dá através do monitoramento de armadilhas chamadas de ovitrampas. A fêmea de *Aedes aegypti* é estimulada a depositar todos os seus ovos na armadilha. Os ovos ficam presos a placas (ou palhetas) de camursa presentes na ovitrampa. As armadilhas são recolhidas periodicamente e os ovos contidos na superfície das palhetas são contados com o auxílio de microscópio. A população de *Aedes aegypti* de uma dada região pode ser estimada através do número de ovos encontrados naquela área. Se este processo for realizado periodicamente, consegue-se estabelecer um monitoramento espaço-temporal da população do *Aedes*, informação esta são de suma importância para que as autoridades de saúde competentes possam planejar ações de combate ao mosquito.

A contagem de ovos com microscópio possui uma série de limitações. As palhetas possuem dimensão retangular média de 12cm x 5cm. A área do campo de visão do microscópio é muito menor que a área da palheta, e não há possibilidade de marcar que regiões da placa foram ou não contadas, ficando a cargo do especialista em contagem memorizá-las. Se ele por qualquer motivo se desconcentrar, precisará reiniciar a contagem daquela placa. Há a possibilidade de dois tipos de erros grosseiros neste processo: uma região ser contada mais de uma vez, ou deixar de ser contada.

Além disso, a contagem de uma placa demanda vários minutos: as de baixa densidade (menos de 100 ovos) podem ser contadas em um ou dois minutos, mas aquelas muito densas (mais de 2000 ovos), podem demorar até trinta minutos. A tarefa de contagem com microscópio, é portanto, desgastante e insalubre. O cansaço visual é intenso, demandando pausas regulares (em

média, para cada 50 minutos trabalhados, descansa-se 10 minutos). Como consequência, espera-se que a acurácia do especialista em contagem diminua ao longo do dia de trabalho.

Na realização da contagem com auxílio do microscópio, esses erros podem comprometer a estimativa correta do número de ovos existentes nas armadilhas, e por consequência, o mapeamento da distribuição espaço-temporal da populacional do mosquito.

A literatura apresenta diversos sistemas de reconhecimento e contagem de objetos em imagens tais como: células cancerígenas [9] ou infectadas com doenças como malária [5], ou ainda macromoléculas [7].

O Sistema Autônomo de Reconhecimento e Contagem de Ovos (SARCO) foi desenvolvido com um conjunto de ferramentas computacionais, capazes de efetuar autonomamente a contagem de ovos de *Aedes aegypti* em ovitrampas. Em relação ao método por microscópio, o SARCO deve diminuir o desgaste físico, aumentar precisão, contar de forma ininterrupta por mais tempo (reduzindo o tempo médio de contagem), permitir auditoria e guardar histórico das contagens.

O SARCO é composto por alguns módulos, sendo dois deles diretamente responsáveis pela contagem. O primeiro desses módulos é o de segmentação, que classifica os pixels da imagem entre OVO (OBJETO) e não OVO (FUNDO), o segundo módulo efetua a estimativa do número de ovos contidos na imagem a partir da área ocupada pelos pixels rotulados como OVO. A calibração do SARCO foi realizada com imagens de palhetas reais, cedidas pelo Centro de Vigilância Ambiental do Município (CVA) de Recife e pelo Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM), que coletou palhetas em Ipojuca e Santa Cruz do Capibaribe.

O objetivo deste artigo, é apresentar um sistema de contagem automática de ovos de *Aedes aegypti* e mostrar sua performance sobre uma amostra de dados reais. A segmentação das imagens foi realizada com redes neurais do tipo MLP, e o número de ovos contados em uma palheta foi estimado a partir da área ocupada por esses ovos na imagem da palheta.

A Seção 2 descreve o conjunto de palhetas e o método de aquisição de imagem escolhido. A Seção 3 esboça a estrutura geral do SARCO e seus dois principais módulos são detalhados nas Seções 4 e 5. Os resultados da contagem automática para um conjunto de 18 palhetas são apresentados na Seção 6. Por fim, as conclusões e perspectivas futuras estão colocadas na Seção 7.

2. AQUISIÇÃO DAS IMAGENS E SELEÇÃO DE PLACAS

As palhetas foram digitalizadas através de um scanner de mesa, com resolução de digitalização de 2400 dpi. Uma palheta de dimensões da ordem de 12cm x 5cm quando digitalizada, resulta em uma imagem de cerca de 11.000pixels x 5.000pixels.

As armadilhas de *Aedes*, tanto em Recife quanto em Ipojuca e Santa Cruz do Capibaribe, estão distribuídas no ambiente urbano, tais como cemitério, estádio de futebol, casa-de-praia, hospital, etc. A permanência em campo das armadilhas varia de duas a quatro semanas. Isso resulta diretamente em placas avariadas com sujeira, manchas de diferentes cores, lodo, areia e ferrugem (as placas são presas nas armadilhas por cliques de metal, que oxidam). Além disso, a metodologia atual de coleta e armazenamento das armadilhas, faz com que a maioria das placas fique empenada.

Quando uma placa empenada é digitalizada com um scanner, parte da superfície da placa não fica em contato com o vidro do scanner. Isto resulta em dois efeitos indesejados: o primeiro é que parte da imagem fica desfocada; o segundo, e pior, é que o tamanho (ou a área) dos ovos na imagem pode variar significativamente de uma região para a outra, dependendo do nível de inclinação da placa com respeito ao plano do vidro do scanner.

A escolha de palhetas sujas e empenadas vindas de ambiente real foi feita para permitir que a calibração do SARCO seja a mais robusta possível. Assim, o SARCO deve efetuar a contagem de placas submetidas aos mais diversos tipos de ruídos, que os dados reais apresentam.

As palhetas escolhidas foram divididas em três faixas de densidade: baixa (menos de 300 ovos); média (número de ovos entre 300 e 600); e alta (acima de 600 ovos). Palhetas com mais de 1500 ovos foram descartadas pois uma palheta cujo número de ovos ultrapassa 1000 ovos é indicativo de que há uma infestação na região da armadilha. Cerca de 300 palhetas foram digitalizadas, 100 de cada faixa. Selecionou-se um grupo de 18 palhetas para os testes de validação do SARCO, sendo 6 de cada faixa.

3. VISÃO GERAL DO SARCO

O SARCO foi desenvolvido de forma modular, programado em linguagem C++. A Figura 1 esboça como uma imagem de palheta digitalizada é processada pelo sistema. Como a imagem original é muito grande, optou-se por particioná-la em blocos menores de 800 pixels x 550 pixels, o que possibilita o processamento em paralelo (de acordo com o número de núcleos do processador). A imagem da placa 12cm x 5cm será dividida em aproximadamente 140 blocos de imagem. Um módulo de gerenciamento ordena a contagem de cada bloco de imagem que segue pelo módulo de segmentação e de contagem do número de blocos. O processo se repete até que todos os blocos tenham sido contados.

Foram testados duas configurações para o Módulo de Segmentação: (i) composto por uma rede neural, que recebe como entrada um bloco de imagem colorida e retorna como saída uma imagem em tons-de-cinza; (ii) composto por duas redes neurais em série, onde a primeira rede recebe como entrada um bloco de imagem colorida e sua saída (uma imagem em tons-de-cinza) é alimentada para a segunda rede neural, que processa bloco de imagem e o envia para o Módulo de Contagem. A segunda rede neural tem como função diminuir a quantidade de ruídos e realçar as regiões de ovos obtidas pela primeira rede neural. Daqui por diante, MS1 e MS2 representam as configurações do SARCO, com Módulo de Segmentação formado por uma e por duas redes neurais, respectivamente. A contagem de palhetas, para os dois casos, será apresentada na Seção 6.

O SARCO possui ainda um módulo de banco de dados (não mostrado na Figura 1), que possibilita o envio das contagens realizadas via rede, para um servidor central.

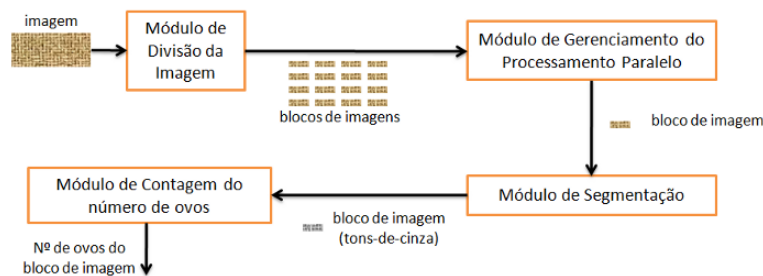


Figura 1: Fluxo de processamento do SARCO.

4. MÓDULO DE SEGMENTAÇÃO

Este módulo recebe como entrada uma imagem, que pode ser colorida ou em tons-de-cinza, e retorna como saída uma imagem em tons-de-cinza. A imagem de saída deve, de alguma forma, realçar as regiões da imagem de entrada que representam ovos. Uma rede neural foi utilizada para realizar esta tarefa.

A idéia é avaliar cada pixel da imagem original, e verificar quais deles têm mais chances de pertencerem a uma região da imagem que contenha ovos. Para isso, deve-se observar a vinhança do pixel e tentar extrair características que diferenciem regiões da imagem com ovos daquelas sem ovos.

O conjunto de descritores escolhidos para representar as características de cada pixel da imagem pode ser entendido ao se observar a Figura 2 (imagem ampliada de um ovo). Nela, o pixel que está sob a marca (no centro da máscara 3x3), será representado por um vetor real de dimensão 9 formado pelos atributos: médias das componentes R, G, B, dos pixels da imagens que estão sob a máscara central de tamanho 3x3; médias R, G, B, e seus respectivos desvios padrões σ_R , σ_G , σ_B , do conjunto de pixels da imagem que estão sob a máscara circular. Se a imagem de entrada for em tons-de-cinza, o número de descritores diminui de 9 para 3, pois como é sabido, o pixel de uma imagem em tons-de-cinza pode ser representado por apenas um valor que indica o nível de cinza.



Figura 2: Esquerda - Imagens da linha 1 (com ovos) e da linha 3 (sem ovos, apenas ruído) foram utilizadas para criar o conjunto de treinamento. Imagens da linha central são as segmentações manuais das imagens da linha 1, ou seja, são as rotulações feitas *a priori* de todos os pixels das imagens da linha 1. Direita - Imagem contendo um ovo e um conjunto de máscaras quadrada central e circular utilizadas para descrever um pixel da imagem (que está sob o ponto central da máscara quadrada).

Um padrão de entrada da rede neural será um vetor \mathbf{x} , de dimensão 9 (imagem colorida) ou 3 (imagem tons-de-cinza). O padrão de saída \mathbf{y} da rede neural será uma rotulação simples entre duas classes: OVO ou não OVO, representados numericamente por -1 e 1. Assim, o par de padrão entrada/saída (\mathbf{x}, \mathbf{y}) é construído. Escolhendo pares de padrões onde é conhecido o seu tipo, *a priori*, pode-se montar um conjunto $\{(\mathbf{x}_i, \mathbf{y}_i^d)\}_{i=1}^n$ para treinar a rede neural.

Um banco de imagens formado por 100 imagens de tamanho 100 pixel x 100 pixel, retiradas das imagens originais das 18 palhetas, foi criado. Esta imagens contém ovos das mais diversas tonalidades assim como diferentes tipos de coloração de ruído. Alguns exemplos de imagens que compõe o banco de imagens podem ser vistos na Figura 2(esquerda). O conjunto de padrões de entrada/saída desejados $\{(\mathbf{x}_i, \mathbf{y}_i^d)\}_{i=1}^n$ utilizados para treinar as redes MLP, foi gerado a partir da seleção aleatória de pixels das imagens que compõe o banco de imagens. O conjunto de treinamento é formado por 9000 padrões quando as imagens do banco de imagens forem coloridas, ou 6000 padrões se as imagens estiverem em tons-de-cinza. O número de padrões das duas classes segue a proporção 8/10 da classe não OVO e 2/10 da classe OVO. O conjunto de padrões foi dividido em 3/4 para treino e 1/4 para validação.

Normalmente a escala característica de imagens é inteira entre [0,255] porém as redes neurais trabalham em intervalos dinâmicos diferentes, em geral contínuos. Dessa forma, a escala inteira [0,255] foi transformada linearmente para a escala contínua [-1,1]. De maneira análoga, a forma inversa foi utilizada para converter as respostas das redes em unidades de imagem.

A segmentação foi realizada por redes MLP [6] com taxa de aprendizagem variável (decaindo suavemente ao longo das iterações). A rede MLP é formada por neurônios distribuídos em camadas, que se conectam a neurônios da camada anterior e

posterior a dele, mas não há conexões entre neurônios da mesma camada [3]. A Figura 3 representa a estrutura de uma rede MLP utilizada (em um caso geral a camada de saída pode ter k neurônios).

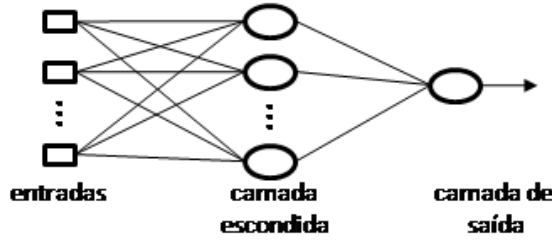


Figura 3: Esboço da rede MLP utilizada nas simulações.

A função de ativação do neurônio possui um intervalo dinâmico na qual ela varia, saturando fora deste intervalo. Todos os neurônios utilizados nas MLPs possuem função de ativação do tipo tangente-hiperbólica:

$$f(u) = \frac{e^{u\lambda} - e^{-u\lambda}}{e^{u\lambda} + e^{-u\lambda}} \quad (1)$$

onde λ é uma constante e u é definido como a ativação do neurônio, ou seja, a soma ponderada de todos os estímulos que chegam a esse neurônio:

$$u = \mathbf{w} \cdot \mathbf{x} \quad (2)$$

onde \mathbf{x} é o vetor de estímulos e \mathbf{w} o vetor de ponderação destes estímulos.

No treinamento supervisionado, o conjunto de dados se apresenta em pares de vetores $(\mathbf{x}, \mathbf{y}^d)$. O treinamento da MLP resulta em um mapeamento de entradas \mathbf{x} em saídas desejadas \mathbf{y}^d . Este mapeamento ocorre pela minimização do erro de saída da rede definido como:

$$\mathbf{f}(\mathbf{a}) = (\mathbf{a} - \mathbf{y}^d)^T (\mathbf{a} - \mathbf{y}^d) \quad (3)$$

onde \mathbf{a} é o vetor de resposta da rede ao padrão \mathbf{x} .

As redes MLP, chamadas também de redes de retropropagação, ajustam os valores dos pesos das conexões de acordo com o erro calculado na (Eq. 3). As primeiras conexões a serem ajustadas são as dos neurônios da última camada. Em seguida, as conexões dos neurônios da camada imediatamente anterior à última são ajustadas utilizando o erro retropropagado para esta camada. Este processo iterativo permanece até corrigir os pesos da primeira camada de neurônios, que está ligada diretamente aos dados de entrada. Matematicamente, os ajustes ocorrem da seguinte forma. Seja o vetor de saída da camada $m+1$ como:

$$\mathbf{a}^{m+1} = \mathbf{f}^{m+1}(\mathbf{W}^{m+1} \mathbf{a}^m) \quad (4)$$

onde $m=0, \dots, M-1$, $\mathbf{a}^0 =$ vetor de entradas e $\mathbf{a}^M = \mathbf{a}$, vetor de saída da rede; \mathbf{f}^{m+1} é a forma vetorial da (Eq. 1) para a camada de neurônios $m+1$; \mathbf{W}^m é a matriz de pesos da camada m . Os pesos da camada m serão ajustados da seguinte forma:

$$\mathbf{W}^m(t+1) = \mathbf{W}^m(t) - \eta(t) \mathbf{s}^m (\mathbf{a}^{m-1})^T \quad (5)$$

$\eta(t)$ é a taxa de aprendizagem variável (decai lentamente até um limiar mínimo) e \mathbf{s}^m é a função que retropropaga os erros para as camadas anteriores:

$$\mathbf{s}^m = \dot{\mathbf{F}}^m (\mathbf{W}^{m+1})^T \mathbf{s}^{m+1} \quad \text{para } m = M, M-1, \dots, 1. \quad (6)$$

$\dot{\mathbf{F}}^m$ é a matriz definida como:

$$\dot{\mathbf{F}}^m(\mathbf{u}^m) = \begin{bmatrix} \dot{f}^m(u_1^m) & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \dot{f}^m(u_2^m) & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \dots & \dot{f}^m(u_{S^m}^m) \end{bmatrix} \quad (7)$$

onde $\mathbf{u} = \mathbf{W}\mathbf{x}$, é forma vetorial da Equação 2 e $\dot{f}^m(u_j^m) = \frac{\partial f^m(u_j^m)}{\partial u_j^m}$. Todos os detalhes do *backpropagation* podem ser vistos em [2].

5. MÓDULO DE CONTAGEM

O módulo de contagem faz um mapeamento do número de pixels rotulados como OVO em número de ovos contidos na imagem. Porém, a entrada deste módulo é uma imagem em tons-de-cinza, ainda não rotulada entre as classes OVO e não OVO. A imagem em tons-de-cinza precisa ser binarizada. Uma vez escolhido o limiar, a binarização se resume a rotular os pixels com valor inferior a esse limiar como sendo da classe OVO, e aqueles com valor acima do limiar como sendo da classe não OVO.

Para conseguir o mapeamento do número de pixels em número de ovos, é necessário saber o número de ovos contido em cada bloco de imagem. Uma ferramenta computacional foi criada para auxiliar especialistas de contagem a realizar este trabalho, com maior precisão e menor desgaste. O sistema exibe na tela do computador um bloco de imagem e o especialista marca com o apontador o ovo na tela. Esta marcação fica registrada em um banco de dados. Após finalizar a contagem em um bloco de imagem, um outro bloco não contado é exibido e o processo continua até finalizar todos os blocos de imagens de uma palheta. Cada imagem de palheta foi contada por três diferentes especialistas em contagem e, o número verdadeiro de ovos contidos na palheta foi assumido como a média aritmética dessas três contagens. Estes especialistas também contaram as respectivas placas com o microscópio. O valor destas contagens pode ser visto na segunda e na última coluna da Tabela 1.

Para avaliar o potencial deste método de estimativa de contagem, decidiu-se aplicá-lo primeiramente sobre um conjunto “ideal”: imagens segmentadas manualmente. Isto porque a dimensão dos ovos, e conseqüentemente sua área na imagem, é muito variável. Os ovos podem estar inteiros ou partidos, ressecados, achatados, contorcidos ou sobrepostos em grande quantidade. Captar a variabilidade associada a área ocupada por um ovos, sem uma componente de ruído devido a sujeira da palheta, é importante para poder tentar estabelecer os limites de precisão que o método pode atingir.

Foram segmentadas manualmente as imagens de 18 palhetas, totalizando 1990 blocos de imagens. Constatou-se que a fração da área total da imagem de uma palheta ocupada por ovos, no maior caso, foi 1,37 %, para uma palheta com alta densidade de ovos (1235 ovos). Este valor dá uma idéia do grau de dificuldade do problema, uma vez que aquilo que se deseja classificar corretamente é uma pequena fração da área total da imagem, que não deve ultrapassar 2 ou 3 %. Calibrar um classificador que consiga ter essa precisão é um desafio, principalmente devido a erros relacionados a falso positivo da classe OVO (classificar um pixel não OVO como sendo OVO).

A Figura 4 mostra dois ajustes, um linear e outro quadrático, sobre o conjunto de 1990 blocos de imagens. Para estimar o número de ovos de uma palheta, deve-se contar o número de ovos estimado em cada bloco de imagem e somá-los. A função quadrática gerou um erro de contagem menor, por isso, foi escolhida como função de calibração para dados de segmentação manual. A terceira coluna da Tabela 1 trás as estimativas do número de ovos com a função quadrática como função de calibração.

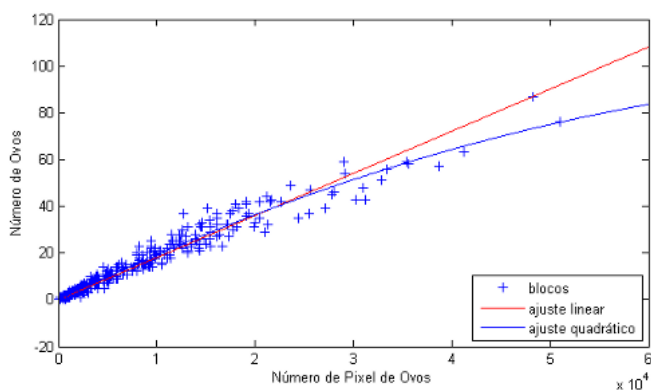


Figura 4: Ajustes linear e quadrático para os dados de Segmentação Manual de 18 palhetas (1990 blocos de imagens).

Seja o erro percentual definido como $\epsilon = 100 \times \frac{ajuste_i - NO_i}{NO_i}$, onde NO_i é a contagem verdadeira da i -ésima palheta e $ajuste_i$ é a estimativa de contagem da mesma palheta. O erro percentual médio e seu desvio padrão serão, respectivamente:

$$\begin{cases} \bar{\epsilon} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \epsilon_i \\ \sigma_{\epsilon} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{\epsilon} - \epsilon_i)^2}{n-1}} \end{cases} \quad (8)$$

O erro percentual médio $\bar{\epsilon}$ e seu desvio padrão σ_{ϵ} , para o caso da segmentação manual, são mostrados na Tabela 2. A função de calibração quadrática sub-estimou em média, o número de ovos das palhetas em 1,87 %. Para corrigir esse desvio basta somar 1,87 % ao valor da contagem de cada palheta. Por exemplo, segundo a Tabela 1, o número de ovos contados na palheta F1-001 foi de 206 ovos. O fator de correção será $1,0187 \times 206 \simeq 210$ ovos. Se ocorresse o inverso, ou seja, o erro percentual médio tivesse sobre-estimado o número de ovos das palhetas, então a correção deveria subtrair 1,87 % da contagem de cada palheta.

Porém, o mais interessante é analisar σ_{ϵ} , pois este é o parâmetro de precisão do método. Como a segmentação manual deveria em princípio, ser a melhor segmentação possível de ser realizada, seu σ_{ϵ} deveria representar um limite inferior de precisão. Dessa forma, efetuado uma estimativa de contagem, o erro associado ao número de ovos contados, para outros métodos de segmentação, deveria ser ou igual superior a 11,9 %.

6. RESULTADOS

O SARCO foi executado testando suas duas configurações do Módulo de Segmentação. O SARCO SM1 utilizou uma rede MLP com vinte neurônios na camada escondida e um neurônio na camada de saída. Essa mesma arquitetura de rede foi utilizada como a primeira rede do SARCO SM2. A segunda rede do SARCO SM2 possui uma camada escondida com dez neurônios e um neurônio na camada de saída. Em todos os casos, a aprendizagem $\eta(t)$ foi ajustada empiricamente.

Ilustrações da segmentação de um bloco de imagem de dimensão 800 pixel x 550 pixel contendo vários ovos, podem ser visto na Figura 5. A segmentação com duas redes em série elimina uma quantidade considerável de ruído, como pode ser visto ao se comparar as duas imagens em tons-de-cinza (da esquerda segmentada com uma rede, da direita com duas redes em série). As duas imagens binarizadas da Figura 5 realçam este resultado.

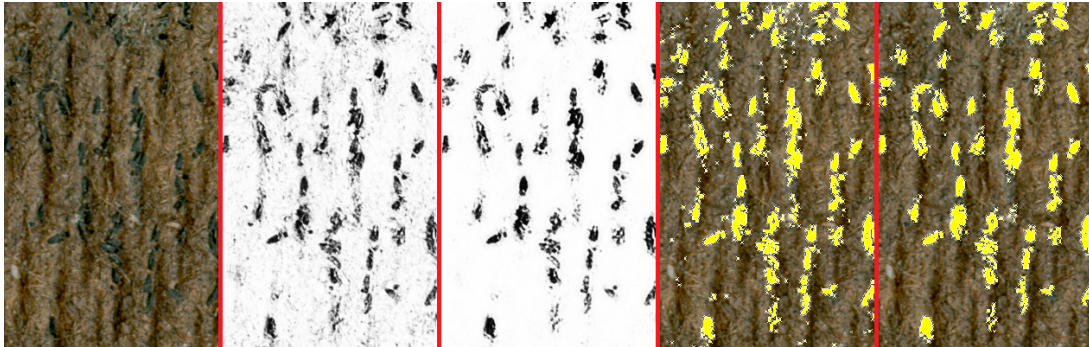


Figura 5: Na sequência: bloco de imagem contendo ovos; imagem de saída do SARCO MS1; imagem de saída do SARCO MS2; imagem de saída do SARCO MS1 binarizada e sobreposta à imagem original (limiar de binarização arbitrário); imagem de saída do SARCO MS2 binarizada e sobreposta à imagem original (limiar de binarização arbitrário).

Porém, ainda existem muitas imagens com problema de ruído como pode ser visto na Figura 6. Ela mostra dois casos típicos, um de um bloco de imagem contendo uma mancha escura que cobre parte da imagem, e outro, que é um bloco de imagem da borda da palheta. Ambas as imagens não possuem ovos, mas a binarização resultou em regiões classificadas erroneamente sendo de ovos, mesmo quando a imagem foi segmentada com o SARCO MS2.

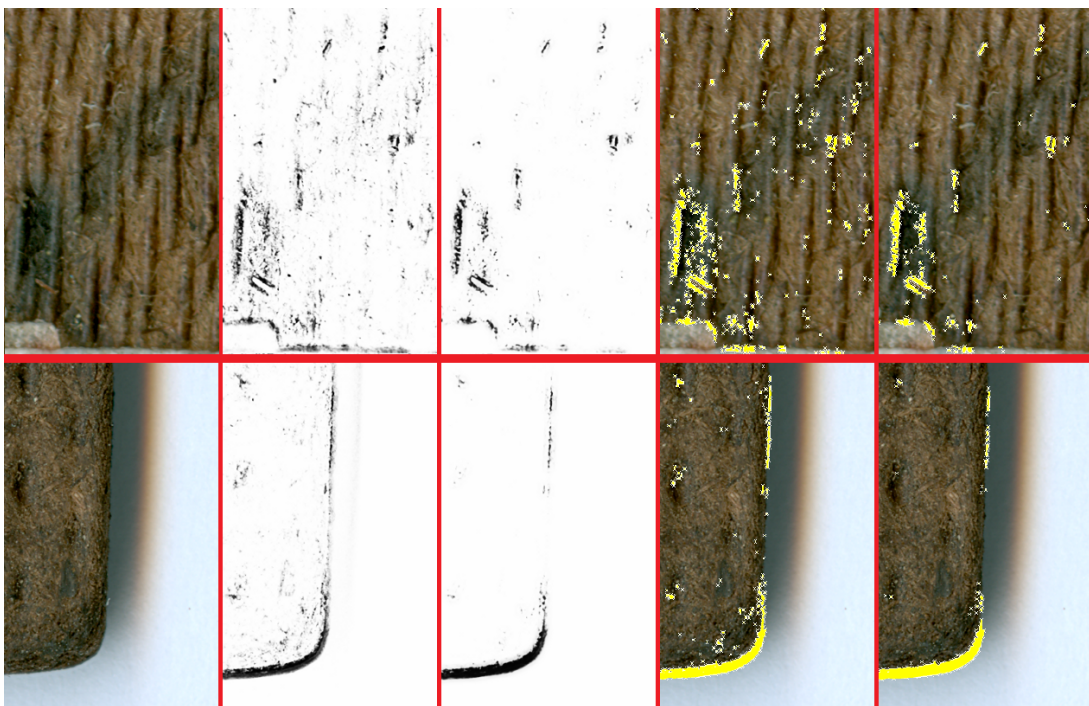


Figura 6: Linha superior, na sequência: bloco de imagem com mancha escura; imagem de saída do SARCO MS1; imagem de saída do SARCO MS2; imagem de saída do SARCO MS1 binarizada e sobreposta à imagem original(limiar de binarização arbitrário); imagem de saída do SARCO MS2 binarizada e sobreposta à imagem original(limiar de binarização arbitrário). Linha inferior: bloco de imagem da borda da palheta, segue a mesma sequência do bloco de imagem da linha superior.

Para se encontrar um limiar de binarização l_b ótimo, foi realizada uma busca exaustiva, variando l_b de 0 a 1 ao passo de 0,0156. Na escala de intensidade utilizada para imagens, isto é equivalente a variar de 0 a 255 com passo 4. O limiar ótimo foi aquele para o qual σ_ϵ (eq. 8) foi mínimo. As funções de calibração testadas para cada valor de limiar, foram as funções linear e quadrática.

A Tabela 1 resume os resultados de contagem. Ela contém o número de ovos verdadeiro em cada palheta (Seção 2), o número de ovos estimado com imagens segmentadas manualmente, com o SARCO MS1 e MS2 (Seção 3), e finalmente as contagens realizadas com auxílio do microscópio (Seção 2). O limiar de binarização para o SARCO MS1 encontrado foi 0,0625 (16 em unidades de intensidade) para uma função de calibração quadrática. Para o SARCO MS2, o limiar de binarização encontrado foi 0,0938 (24 em unidades de intensidade) também para uma função de calibração quadrática.

Tabela 1: Número de ovos em dezoito palhetas: coluna 2, valor verdadeiro; colunas 3, 4 e 5, estimado a partir de imagens segmentadas manualmente, segmentadas com SARCO MS1, segmentadas com SARCO MS2; coluna 6, contados com auxílio do microscópio.

Palheta	Nº de Ovos	Seg. Manual Estimativa	SARCO MS1 Estimativa	SARCO MS2 Estimativa	Contagem com Microscópio
F1-001	229	206	160	192	262
F1-009	265	201	185	189	210
F1-020	264	231	188	222	114
F1-026	230	284	258	274	203
F1-034	328	353	342	342	234
F1-040	255	256	224	244	259
F2-040	443	348	288	336	497
F2-046	543	574	535	561	466
F2-070	449	458	429	447	403
F2-082	428	400	367	389	426
F2-094	442	396	363	386	274
F2-098	413	421	396	409	320
F3-025	1013	985	1008	969	850
F3-028	1030	1082	1109	1067	1029
F3-045	761	793	761	777	724
F3-047	1235	1346	1528	1316	1325
F3-053	577	621	671	604	536
F3-083	1299	1132	1196	1109	1339

A Tabela 2 resume as estatísticas calculadas pela (Eq. 8) sobre os dados da Tabela 1. Um sinal negativo do erro percentual médio indica que o método, em média, sub-estimou o número de ovos das palhetas. Um sinal positivo do erro percentual médio indicaria que o método sobre-estimou, em média, o número de ovos das palhetas. Em ambos os casos, a calibração para corrigir estas distorções é simples (veja Seção 5). Para comparar estatisticamente os resultados da Tabela 2 no que se refere ao parâmetro de precisão σ_ϵ , são necessários testes de hipótese sobre estes dados.

Foram realizados dois testes de hipótese cuja combinação dos resultados induzem a uma conclusão estatisticamente referendada. O primeiro teste hipótese (teste Lilliefors) deve ser aplicado para verificar se os dados seguem de uma distribuição normal, pois o segundo teste (teste F) só pode ser aplicado se ambos os conjuntos de dados seguirem uma distribuição normal. O teste de Lilliefors [4] possui a seguinte hipótese nula H_0 : o conjunto de dados segue uma função da família da normal, com média e variância desconhecidas. O teste de Lilliefors foi aplicado sobre cada conjunto de dados. Para todos eles, a hipótese nula H_0 não foi rejeitada, com 95 % de confiança.

O próximo teste compara as variâncias de dois conjuntos de dados. O teste F possui a seguinte hipótese nula H_0 : as variâncias dos dois conjuntos de dados são iguais [8]. Foram realizados testes F sobre cinco pares: (Seg. Manual; SARCO MS1), (Seg. Manual; SARCO MS2), (Seg. Manual; Microscópio), (SARCO MS1; SARCO MS2) e (SARCO MS2; Microscópio). A hipótese nula H_0 foi rejeitada para todos os casos, com exceção do par (Seg. Manual; SARCO MS2), com 95 % de confiança.

A precisão alcançada pelo SARCO é estatisticamente indêntica aquela obtida pela segmentação manual, com 95 % de confiança nesta afirmação, se as imagens forem processadas pelo Módulo de Segmentação com duas redes neurais em série. Além disso, a precisão do Microscópio é estatisticamente inferior, tanto à segmentação manual quanto ao SARCO MS2, com 95 % de confiança. Por fim, o SARCO alcançou a máxima precisão possível nesta modelagem, que significa um erro de contagem da ordem de 12,0 %.

7. CONCLUSÃO

O Sistema Autônomo de Reconhecimento e Contagem de Ovos SARCO foi desenvolvido para realizar de forma mais rápida e precisa uma tarefa que hoje é extremamente insalubre para aquele que a executa.

Tabela 2: Erro percentual médio e desvio padrão das contagens da Tabela 1.

	Erro Percentual Médio $\bar{\epsilon}$	Desvio Padrão σ_{ϵ}
Seg. Manual	-1,87	11,9
SARCO MS1	-6,8	16,7
SARCO MS2	-4,9	12,0
Microscópio	-10,7	18,1

O SARCO é formado por um conjunto de módulos que lê, particiona a imagem em blocos menores, efetua a contagem de ovos em cada bloco de imagem, e retorna a contagem final de todos os blocos. Seus dois módulos principais são os módulos de segmentação e o de contagem. O módulo de segmentação é uma rede neural MLP que converte uma imagem em outra imagem, sendo que nesta última as regiões de ovos são destacadas. O módulo de contagem aplica uma binarização sobre a imagem resultante do módulo de segmentação e faz um mapeamento do número de pixels classificados como OVO em número de ovos.

Testes de validação do SARCO foram realizados com 18 imagens de palhetas vindas de armadilhas que estão instaladas atualmente no espaço urbano de municípios pernambucanos. Estas palhetas apresentam diversos tipos de ruído, tais como manchas, ferrugem, lodo e areia, tornando o problema mais realista e desafiador. Por outro lado, possibilita que o SARCO seja calibrado para seja mais robusto.

Testes de precisão de contagem foram realizados para: (i) contagem com microscópio; (ii) SARCO com imagens segmentadas manualmente; (iii) SARCO com imagens segmentadas após uma passagem pelo módulo de segmentação; (iv) SARCO com imagens segmentadas após duas passagens pelo módulo de segmentação.

Acredita-se que (ii) seja o método mais preciso, uma vez que boa parte do ruído pode ser eliminado *a priori*. Mesmo neste caso, o erro da contagem foi da ordem de 12 %. Quando comparado com os erros de contagem de (i), (iii) e (iv), verificou-se que apenas os erros de (ii) e (iv) são estatisticamente idênticos, com 95 % de confiança. Dessa forma, o SARCO alcançou a precisão máxima disponível para este método.

Os tempos de contagem ainda são, em média, 50 % maiores que aqueles com a contagem com microscópio. Porém, testes preliminares com imagens de mais baixa resolução (1200 dpi ao invés do 2400 dpi atuais) apontam a possibilidade de que o SARCO também possa ser calibrado para resoluções mais baixas. Uma imagem digitalizada em 1200 dpi, possui 1/4 da quantidade de pixels da mesma imagem digitizada em 2400 dpi, o que tornaria o SARCO efetivamente mais rápido que a contagem com microscópio.

Agradecimentos – À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e à Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco pelo suporte financeiro. Ao Centro de Vigilância Ambiental do município de Recife e ao Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães pelo empréstimos das ovitampas.

REFERÊNCIAS

- [1] L. Régis, W. V. Souza, A. F. Furtado, C. D. Fonseca, J. C. Silveira Jr., P. J. Ribeiro Jr., M. A. V. Melo-Santos, M. S. Carvalho, A. M. V. Monteiro, An entomological surveillance system based on open spatial information for participative dengue control, **Annals of the Brazilian Academy of Sciences** 81(4) (2009), 655-662.
- [2] M. T. Hagan, H. B. Demuth, M. Beale, Neural Networks Design, **Publishing Company**, (1996).
- [3] S. Haykin, Neural Networks: A Comprehensive Foundation, **Prentice Hall** (1994).
- [4] W. H. Lilliefors, On the Komogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown, **J. Am. Stat. Assoc.** 62 (1967), 399-402.
- [5] N. E. Ross, C. J. Pritchard, D. M. Rubin, A. G. Duse, Automated image processing method for the diagnosis and classification of malaria on thin blood smears, **Med. Biol. Eng. Comput.** 44 (2006), 427-436.
- [6] D. E. Rumelhart, G. E. Hinton, R. J. Williams, Learning internal representations by error propagation, **Nature** 323 (1986), 533-536.
- [7] V. Singh, D. C. Marinescu, T. S. Baker, Image segmentation for automatic particle identification in electron micrographs based on hidden Markov random field models and expectation maximization, **Journal of Structural Biology** 145 (2004) 123-141.
- [8] M. R. Spiegel, Statistics - theory and problems, **McGraw-Hill** (1995).
- [9] T. Würflinger, J. Stockhausena, D. Meyer-Ebrechta, A. Böcking, Robust automatic coregistration, segmentation, and classification of cell nuclei in multimodal cytopathological microscopic images, **Computerized Medical Imaging and Graphics** 28 (2004), 87-98.