



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

Facultad de Ingeniería Eléctrica, Electrónica, Informática y Mecánica

Escuela Profesional de Ingeniería Informática y de Sistemas

IDENTIFICACIÓN DE MÉTODOS DE PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES BACTERIOLÓGICAS MICROSCÓPICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO INFORMÁTICO Y DE SISTEMAS**

Presentado por:

Br. HERLY LAROTA MAMANI

Br. GIONAL OVALLE GAMARRA

Bajo la asesoría de:

MG. ARTURO J. ROZAS HUACHO

2020

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mis padres que son los que siempre han estado motivándome, además siempre me apoyaron tanto moralmente y económicamente, así mismo a las personas que en cada momento y cada día me alientan a seguir adelante y que a la vez han sido parte de mi formación y aportaron en ser cada vez mejor en el pasado como en el presente.

Gional

A mi familia con mucho cariño, aprecio que Dios ilumine sus caminos.

Herly

AGRADECIMIENTO

Los agradecimientos van dirigidas a las personas y la Universidad quienes hicieron posible la realización de esta investigación, principalmente agradecemos a nuestros padres, hermanos(as), tíos por el apoyo y motivación entregada.

Asimismo, a nuestro asesor Mgt. Arturo J. Rozas Huacho, por su permanente soporte y dedicación entregada en este proyecto de investigación a lo largo de todo el desarrollo de nuestra preparación.

A la plana docente de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco a quienes tuvimos el privilegio de tener como maestros que nos dieron la oportunidad de compartir experiencias y contar con herramientas irremplazables que nos acompañarán a lo largo de nuestra vida académica.

RESUMEN

El diagnóstico de la Tuberculosis (TBC) es un proceso fundamental para iniciar un tratamiento médico y/o farmacológico exitoso, sin embargo este carece de un método de diagnóstico que sea económico y confiable ya que la TBC es una enfermedad infecto contagiosa que se hace multidrogo resistente cuando se realiza un diagnóstico tardío o en una etapa avanzada; Este retraso se debe a que los laboratoristas de los centros especializados de diagnóstico tienen sobre carga laboral, como cansancio mental y físico, generando la disminución de la capacidad de identificación y por ende el conteo de bacterias de TBC, en este sentido el objetivo del presente trabajo es identificar métodos de procesamiento digital de imágenes adecuadas para el diagnóstico de este mal (ver ilustración 40, página 73), en este contexto se examinan algoritmos de color (RGB y HSV), algoritmos de morfología (erosión y dilatación) y algoritmos de borde (Canny y Sobel). Para el conteo de los bacilos se desarrolló un módulo basada en tres condiciones (perímetro, tangente y diámetro) para determinar a posibles objetos de interés, la importancia de este trabajo es la posibilidad de contar con una herramienta tecnológica de diagnóstico confiable de TBC, en este sentido el presente estudio tiene un enfoque cuantitativo analítico de estimación de características operativas de confiabilidad (sensibilidad, especificidad) y exactitud de pruebas diagnósticas, ya que va a comparar el desempeño de diagnóstico de esta herramienta contra técnicas de laboratorio utilizadas como pruebas de rutina o de referencia (Gold Standar), el tamaño de la muestra es de 92 muestras con un nivel de confianza del 75 % provenientes de Redes de Salud y hospitales de la Región Cusco, obteniéndose una herramienta tecnológica de diagnóstico de la tuberculosis basado en procesamiento de imágenes con un nivel de confianza mayor al 95 % y una exactitud mayor al 96 %.

Palabras clave: Diagnostico, confiabilidad, exactitud, Gold estándar, tuberculosis.

ABSTRACT

The diagnosis of Tuberculosis (TB) is a fundamental process to initiate a successful medical and / or pharmacological treatment, however a diagnostic method that is economical and at the same time reliable is lacking, since TB is an infectious disease contagious that resistant multidrogo becomes when a late diagnosis is made or in an advanced stage. This delay is due to the fact that the laboratories of the specialized diagnostic centers have over workload, other functions to fulfill, fatigue factors, physical condition and subjective factors, generating a decrease in the identification capacity and therefore the bacterial count of TBC, in this sense the objective of this work is to identify digital image processing methods suitable for the diagnosis of tuberculosis (see illustration 40, page 73), in this context we examine color algorithms (RGB and HSV), algorithms of morphology (erosion and dilation) and edge algorithms (Canny and Sobel). For the bacillus count, a module based on three conditions (perimeter, tangent and diameter) was developed to determine possible objects of interest, the importance of this work is the possibility of having a reliable diagnostic technology tool for TB, in In this sense, the present study has a quantitative analytical approach to estimate the operational characteristics of reliability (sensitivity, specificity) and accuracy of diagnostic tests, since it will compare the diagnostic performance of this tool against laboratory techniques used as routine tests or of reference (Gold Standar), the sample size is 92 samples with a confidence level of 75% from Health Networks and hospitals of the Cusco Region, obtaining a technological tool for diagnosis of tuberculosis based on image processing with a confidence level greater than 95% and an accuracy greater than 96%.

Keywords: Diagnosis, reliability, accuracy, Gold standard, tuberculosis.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTO	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
ÍNDICE.....	V
INDICE DE ILUSTRACIONES.	VIII
INDICE DE TABLAS.....	IX

INTRODUCCIÓN.....	1
--------------------------	----------

CAPÍTULO I.....	3
------------------------	----------

ASPECTOS GENERALES	3
--------------------------	---

1.1. PROBLEMA.....	4
--------------------	---

1.1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.	4
---------------------------------------	---

1.1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.	5
---------------------------------------	---

1.2. OBJETIVOS.	5
----------------------	---

1.2.1. OBJETIVO GENERAL.	5
-------------------------------	---

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
------------------------------------	---

1.3. JUSTIFICACIÓN.	6
--------------------------	---

1.3.1. JUSTIFICACIÓN METODOLÓGICA.....	6
--	---

1.3.2. JUSTIFICACIÓN PRÁCTICA.	6
-------------------------------------	---

1.3.3. JUSTIFICACIÓN TEÓRICA.....	7
-----------------------------------	---

1.4. METODOLOGÍA.	7
------------------------	---

1.5. ALCANCES Y LIMITACIONES.	10
------------------------------------	----

1.5.1. ALCANCES.	10
-----------------------	----

1.5.2. LIMITACIONES.....	10
--------------------------	----

1.6. RESULTADOS ESPERADOS.....	10
--------------------------------	----

CAPÍTULO II.....	12
-------------------------	-----------

MARCO TEÓRICO.....	12
---------------------------	-----------

2.1. ANTECEDENTES.....	13
------------------------	----

2.2. IMAGEN DIGITAL.	16
---------------------------	----

2.3. ESPACIO DE COLOR.	17
-----------------------------	----

2.3.1.	ESPACIO DE COLOR RGB.	19
2.3.2.	ESPACIO DE COLOR HSV.	20
2.4.	DETECTOR DE BORDE.	23
2.4.1.	DETECTOR DE BORDE DE CANNY.	23
2.4.2.	DETECTOR DE BORDE DE SOBEL.	26
2.5.	OPERACIONES MORFOLÓGICAS.	28
2.5.1.	DILATACION.	29
2.5.2.	EROSION.	30
2.6.	TUBERCULOSIS.	31
2.7.	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL BACILO.	31
2.8.	TINCIÓN DE ZIEHL-NEELSEN.	32
2.9.	CAMPOS LEÍDOS.	36
2.10.	EMGUCV.	37
 CAPÍTULO III		38
TECNICAS DE PROCESAMIENTO DIGITAL.		38
3.1.	DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN.	39
3.2.	ETAPA DE COMPARACIÓN DE ALGORITMOS A SER COMPARADOS.	39
3.3.	FILTRO DE COLOR.	41
3.3.1.	FILTRO HSV.	42
3.3.2.	FILTRO RGB.	45
3.3.3.	HISTOGRAMAS DE FILTROS DE COLOR.	50
3.4.	FILTRO DE MORFOLOGIA.	52
3.4.1.	DILATACION.	55
3.4.2.	EROSIÓN.	60
3.5.	DETECCIÓN DE BORDES.	63
3.5.1.	ALGORITMO DE SOBEL.	63
3.5.2.	ALGORITMO DE CANNY.	66
3.5.3.	HISTOGRAMAS DE FILTRO DE BORDE.	70
3.6.	ALGORITMO DE DETECCIÓN Y CONTEO.	72
3.6.1.	PERÍMETRO DE OBJETOS DE INTERÉS.	73

3.6.2. ESTIMAR FORMA DE OBJETOS DE INTERÉS.	74
CAPÍTULO IV.....	77
VALIDACION DE RESULTADOS.	77
4.1. POBLACIÓN Y MUESTRA.	78
4.1.1. POBLACIÓN.	78
4.1.2. TAMAÑO DE MUESTRA.	78
4.1.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	79
4.1.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	79
4.2. MATERIALES.	80
4.3. VARIABLES.	81
4.4. RECOLECCIÓN DE DATOS.	82
4.5. CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE DIAGNÓSTICO.	84
4.5.1. CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN +.	87
4.5.2. CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN ++.	89
4.5.3. CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN +++.....	91
4.5.4. CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN -.	93
4.5.5. CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE PAUCIBACILAR	95
4.5.6. TIEMPO DE LECTURA.....	97
CONCLUSIONES.	103
RECOMENDACIONES.	106
BIBLIOGRAFÍA.	107
ANEXOS.....	111

INDICE DE ILUSTRACIONES.

Ilustración 1: Espacio de color RGB.	20
Ilustración 2: Representación gráfica del espacio de color HSV	21
Ilustración 3: Espacio de color HSV.	22
Ilustración 4: Gradiente de un píxel de borde.	27
Ilustración 5: Reconocimiento de contornos mediante el operador Sobel.	28
Ilustración 6: Dilatación para un elemento estructural con forma de disco.	30
Ilustración 7: erosión para un elemento estructural con forma de disco.	31
Ilustración 8: Coloración con Fucsina.	33
Ilustración 9: Calentamiento.	34
Ilustración 10: Primer lavado.	34
Ilustración 11: Decoloración con alcohol ácido.	35
Ilustración 12: Segundo lavado.	35
Ilustración 13: Coloración de Fondo con azul de metileno.	36
Ilustración 14: Tercer lavado.	36
Ilustración 15: Imagen primigenia.	41
Ilustración 16: Imagen de muestra de bacilos con filtro HSV.	42
Ilustración 17: Zona A de la muestra original de bacilo.	43
Ilustración 18: valores de imagen primigenia para filtro HSV.	45
Ilustración 19: Imagen primigenia, sin filtro de color.	46
Ilustración 20: Imagen primigenia con filtro de color RGB.	47
Ilustración 21: Objetos de interés por filtro de color RGB.	48
Ilustración 22: Límites de color RGB utilizados.	49
Ilustración 23: Histograma de la imagen con filtro RGB.	51
Ilustración 24: Histograma de la imagen con filtro HSV.	51
Ilustración 25: Muestra inicial sin aplicar filtro de color.	53
Ilustración 26: Bacilos segmentados por filtro de color RGB.	53
Ilustración 27: Bacilos con aplicación de dilatación.	54
Ilustración 28: Bacilos con aplicación de dilatación.	54
Ilustración 29: Muestra con filtro dilatación/borde.	55
Ilustración 30: Muestra con dilatación grado 1.	56
Ilustración 31: Muestra con dilatación grado 3.	57
Ilustración 32: Muestra con dilatación y ruido minimizado.	58
Ilustración 33: Muestra con erosión.	60
Ilustración 34: Muestra de bacilo con filtro morfológico.	64
Ilustración 35: Imagen con filtro de Sobel.	64
Ilustración 36: Imagen con filtro de Canny.	65
Ilustración 37: Histograma de la Muestra de bacilo con filtro Canny.	71
Ilustración 38: Histograma de la Muestra de bacilo con filtro Sobel.	71
Ilustración 39: Muestra con filtrado de diámetro.	74
Ilustración 40: Grafica de solución planteada.	76
Ilustración 41: Laminas de muestras de esputo.	79
Ilustración 42: Microscopio EICA ICC50 HD.	81

INDICE DE TABLAS.

Tabla 1: <i>Técnica utilizada para convertir imagen primigenia en HSV.</i>	44
Tabla 2: <i>Técnica utilizada para convertir imagen primigenia en RGB.</i>	46
Tabla 3: <i>Algoritmo utilizado para dilatación.</i>	59
Tabla 4: <i>Algoritmo utilizado para Erosión.</i>	61
Tabla 5: <i>Algoritmo utilizado para Sobel.</i>	66
Tabla 6: <i>Algoritmo utilizado para Canny.</i>	68
Tabla 7: <i>Definición de variables.</i>	81
Tabla 8: <i>Definición de dimensiones e indicadores de variable.</i>	82
Tabla 9: <i>Ejemplo de cantidad de imágenes.</i>	83
Tabla 10: <i>Tabla 2X2 para validación de prueba.</i>	84
Tabla 11: <i>Tabla 2X2 para validación de condición +.</i>	87
Tabla 12: <i>Tabla 2X2 para validación de condición ++.</i>	89
Tabla 13: <i>Tabla 2X2 para validación de condición +++.</i>	91
Tabla 14: <i>Tabla 2X2 para validación de condición -.</i>	94
Tabla 15: <i>Tabla 2X2 para validación de condición Paucibacilar</i>	95
Tabla 16: <i>Tiempo requerido por algoritmo para las 92 láminas</i>	99
Tabla 17: <i>Tiempo requerido por el especialista para leer las 92 láminas</i>	101
Tabla 18: <i>Validación general.</i>	113
Tabla 19: <i>Validación de condición +.</i>	116
Tabla 20: <i>Validación de condición++.</i>	116
Tabla 21: <i>Validación de condición+++.</i>	117
Tabla 22: <i>Validación de condición -.</i>	118
Tabla 23: <i>Validación de condición Paucibacilar</i>	118
Tabla 24: <i>Tiempo requerido por especialista</i>	120

INTRODUCCIÓN

La TBC es una es una enfermedad causada por Mycobacterium tuberculosis, esta infección es muy frecuente en países subdesarrollados como el nuestro; El diagnóstico de la tuberculosis se realiza mediante la prueba de baciloscopía, este diagnóstico está ligado a factores subjetivos como el cansancio, criterios de conteo de bacilos y experiencia del laboratorista generando un margen de error alto en los resultados del diagnóstico de la TBC, es así que la falta de personal capacitado, equipo médico y factores subjetivos incrementan el número de diagnósticos con un nivel bajo de confiabilidad y sensibilidad.

Para solucionar este problema se plantea la implementación de un algoritmo de conteo e identificación de los bacilos que generan la tuberculosis, esto a través de la utilización de métodos de procesamiento digital de imágenes, así como la elección de la zona o espacio de color más adecuado, determinación de forma, filtro de borde y selección de técnicas.

En el Capítulo 1 se muestra ASPECTOS GENERALES del proyecto como la problemática, objetivos, justificación, metodología, alcances, etc.

En el Capítulo 2, se muestra el MARCO TEÓRICO donde se definen conceptos teóricos sobre; algoritmos utilizados para el conteo de bacilos, TBC, tinción de Ziehl Neelsen y librería usada.

En el Capítulo 3, se muestra las TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DE IMAGEN en el cual se explica el porqué de la secuencia de los algoritmos (color, borde y forma) utilizadas para el conteo de los bacilos, además se detalla el algoritmo implementado de identificación de dichos bacilos.

Finalmente, **en el Capítulo 4** se muestra la VALIDACION DE RESULTADOS donde se detalla el tratamiento realizado para cuantificar los valores de confiabilidad

(especificidad, sensibilidad) y exactitud, además se describen los tiempos de lectura requerida por el especialista y el método basado en procesamiento de imágenes.

CAPÍTULO I

ASPECTOS GENERALES

1.1. PROBLEMA.

1.1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.

El diagnóstico de la TBC mediante la prueba de bacilos cópica es el más utilizado para combatir esta enfermedad debido a su bajo costo y rapidez; Sin embargo este método es tedioso y extenuante que genera cansancio en el personal laboratorista cuando hay exceso de pacientes que requieren el análisis de muestras y pacientes en espera por resultados o confirmación de TBC.

La situación del aumento de número de pacientes que requieren el servicio de análisis de muestras para obtener el diagnóstico de TBC, deriva en el estancamiento de muestras por ser analizadas y el incremento del tiempo requerido para obtener los resultados, traduciéndose en una deficiencia de gestión de la atención hospitalaria, puesto que en casos críticos el diagnóstico tardío de la tuberculosis produce complicaciones en la salud de pacientes con síntomas de esta patología.

Además el correcto enfoque de la muestra y la celeridad con que se diagnostica la enfermedad muchas veces depende de la experiencia del personal teniendo tiempo de análisis más prolongados en la medida que no se cuente con la experiencia necesaria.

Resumiendo, el diagnóstico de la TBC consiste primero en identificar y realizar el conteo de los bacilos, estos dos procesos (identificación y conteo) están sujetos a factores como el cansancio físico y mental, así como experiencia y la subjetividad del personal generando falsos positivos o falsos negativos cuando por lo menos uno de dichos factores no es el adecuado.

1.1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Qué métodos de procesamiento de imágenes son los más apropiados para el diagnóstico de la tuberculosis?

1.2. OBJETIVOS.

1.2.1. OBJETIVO GENERAL.

Identificar métodos de procesamiento digital de imágenes bacteriológicas microscópicas para el diagnóstico de la tuberculosis y determinar el más apropiado.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar un método de procesamiento digital de imágenes, para establecer un espacio de color donde exista un significativo contraste entre intensidades de color de píxeles de los bacilos y el fondo de la imagen de la muestra de esputo en función a la coloración de tinción de Ziehl - Neelsen.
2. Identificar un método de procesamiento digital de imágenes, para determinar la forma o estructura de posibles objetos de interés en el espacio de color.
3. Identificar un método de procesamiento digital de imágenes, para definir los bordes e identificar y contar el Bacilo de Koch o Mycobacterium Tuberculosis.
4. Seleccionar el tiempo de diagnóstico del método de procesamiento digital de imágenes.

5. Determinar la confiabilidad y sensibilidad del método de procesamiento digital de imágenes.

1.3. JUSTIFICACIÓN.

1.3.1. JUSTIFICACIÓN METODOLÓGICA.

Debido la gran demanda de diagnóstico de TBC que se procesan existe una sobre carga laboral, cansancio y falta de experiencia en el personal laboratorista, se requiere de un método alternativo de diagnóstico por baciloscopia con coloración de ziehl-neelsen.

En este sentido el presente trabajo de investigación propone un nuevo método automatizado que agiliza y garantiza un diagnóstico confiable y sensible; Por ello la estandarización y validación de esta herramienta tecnológica para diagnosticar la tuberculosis a través de procesamiento digital de imágenes abarca mayor cantidad de campos de lectura en menos tiempo, con un nivel alto de confiabilidad en la identificación.

1.3.2. JUSTIFICACIÓN PRÁCTICA.

Este trabajo de investigación permite mejorar los múltiples problemas que representa realizar las lecturas microscópicas como diagnóstico oportuno y rápido ayudando a brindar tratamientos adecuados por los especialistas.

Asimismo permite mejorar la calidad de atención en procesos médicos como es el diagnóstico de patologías epidemiológicas y sistémicas, a través del procesamiento, análisis y conteo de bacilos o elementos patógenos permite obtener diagnósticos certeros en menor tiempo y sobre todo en periodos

oportunos (diagnósticos no tardíos), en pacientes con indicios de afecciones o males que le podrían ocasionar la muerte siendo esta técnica basada en procesamiento de imágenes una herramienta sencilla, económica y con un alto grado de confiabilidad de resultados.

1.3.3. JUSTIFICACIÓN TEÓRICA.

Con el procesamiento digital de imágenes planteada en la presente investigación, es posible lograr una mejor resolución y mejorar la identificación de los bacilos de la tuberculosis, leer mayor cantidad de campos microscópicos en segundos, lo cual beneficiara a los laboratoristas quienes se pasan horas realizando la lectura de láminas: Esta tecnología no solo serviría para diagnosticar la tuberculosis sino también se podría diagnosticar otras enfermedades como la Malaria, Leishmania y Bartonelosis, las cuales se detectan bajo el mismo modelo de la tuberculosis.

1.4. METODOLOGÍA.

El tipo de investigación es aplicada ya que se aprovecha los conocimientos logrados por la investigación básica o teórica para el conocimiento y solución de problemas inmediatos.

El presente estudio tiene un enfoque cuantitativo analítico de estimación de características operativas confiabilidad (sensibilidad, especificidad) y exactitud de pruebas diagnósticas, ya que va a comparar el desempeño de diagnóstico de una “nueva” técnica contra técnicas de laboratorio utilizadas como pruebas de rutina o de referencia (Gold Standar) para el diagnóstico de Tuberculosis.

Esta investigación corresponde a un estudio primario, observacional, analítico de corte transversal (cross-sectional) de datos de variables de diagnósticos de TBC, que evalúa el desempeño de una prueba de diagnóstico basada en procesamiento de imágenes, en muestras de control de DIRESA.

Para el conteo e identificación de bacilos procesados bajo la solución planteada por el presente trabajo se requiere que las imágenes de las muestras de esputo sean provenientes de la tinción de “ZIEHL NEELSEN”, es decir muestras que presenten la coloración “FUCSIA” color característico de muestras generadas al ser sometidos a la prueba de baciloscopia, esta prueba consiste en realizar un conteo de bacilos en la muestra de esputo visualizadas a través de un microscopio, dependiendo de la cantidad de bacilos se diagnostica al paciente con tuberculosis con baciloscopia positiva +, baciloscopia positiva ++, baciloscopia positiva +++, baciloscopia negativa o paucibacilares. Esta prueba consiste en aprovechar la propiedad de “ácido-alcohol” resistencia de las micobacterias, producidas cuando las muestras de esputo pasan por un proceso de tinción de ZIEHL NEELSEN, lo cual permite ser visualizadas por el ojo humano a los bacilos coloreados de color fucsia con un fondo blanco – celeste, la intensidad de esta visualización depende del proceso adecuado e coloración con esta técnica de tinción.

La secuencia de pasos para determinar un espacio de color adecuado y posible objetos de interés (bacilos) son:

1. Identificar una técnica de procesamiento digital de imagen para determinar un espacio de color adecuado para el diagnóstico de TBC.

2. Identificar una técnica de procesamiento digital de imagen para determinar la forma de objetos (bacilos u objetos de no interés) dentro del espacio de color.
3. Identificar una técnica de procesamiento digital de imagen para definir puntos dispersos de objetos dentro del espacio de color.

Y para realizar la identificación y conteo de bacilos se:

1. Determina el perímetro de los objetos encontrados en un campo.
2. Determinar la tangente de puntos más extremos.
3. Determinación del diámetro de objetos.

Para realizar la validación de la prueba de diagnóstico basada con procesamiento de imágenes implementada en el presente trabajo se llevara a cabo una comparación cuantitativa con la validación Gold Estándar a través la prueba de ZN (baciloscopia),

dicha comparación se efectuará evaluando la sensibilidad, especificidad y exactitud del método Gold estándar vs el diagnóstico generado por el método implementado en esta tesis para cada grupo de láminas con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia positiva +, baciloscopia positiva ++, baciloscopia positiva +++, baciloscopia negativa y paucibacilares.

Cabe mencionar que las muestras de pacientes con diagnóstico clínico positivo y negativo (+, ++, +++, - y paucibacilar) de la TBC, obtenidos mediante la tinción de Ziehl–Neelsen, serán facilitadas por el Laboratorio Referencial de Salud Pública de la DIRESA Cusco.

1.5. ALCANCES Y LIMITACIONES.

1.5.1. ALCANCES.

1. El método de recolección de datos será mediante una observación estructurada ya que se utilizará un medio para la recolectar información, el cual será un microscopio LEICA ICC50 HD, está ubicado e instalado en el Laboratorio Referencial de Control de Calidad de DIRESA.
2. El proceso de recolección de datos implica tomar fotografías con el LEICA a los campos correctamente enfocados y visualizados, la cantidad de imágenes tomadas estarán sujetas a la cantidad de muestras de la población de estudio facilitadas y por el tipo de lectura de las láminas (+, ++, +++, - y paucibacilar).

1.5.2. LIMITACIONES.

1. El laboratorio de DIRESA tiene un microscopio LEICA, esto hace lento el proceso de recolección de imágenes de los campos de las muestras.
2. El enfoque de las imágenes de los campos es también un proceso lento debido a que cada imagen es irregular pese a estar en una misma lamina de esputo.

1.6. RESULTADOS ESPERADOS.

1. Diagnosticar la tuberculosis mediante el algoritmo basado en el procesamiento digital de imágenes, optimizando tiempos de lectura y mejorar la confiabilidad de los resultados.

2. Establecer un método de procesamiento digital de imágenes para determinar un espacio de color donde exista un significativo contraste entre intensidades de color de píxeles de los bacilos y el fondo de la imagen de la muestra de esputo en función a la coloración de tinción de Ziehl - Neelsen.
3. Establecer un método de procesamiento digital de imágenes para determinar la forma o estructura de posibles objetos de interés dentro del espacio de color.
4. Establecer un método de procesamiento digital de imágenes para definir puntos dispersos a los objetos de interés dentro de un espacio de color.
5. Establecer la secuencia de los algoritmos de procesamiento de imágenes adecuadas para el diagnóstico de la TBC.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES.

En este punto se detallan los trabajos desarrollados recientemente y orientados a realizar procesamiento de Imágenes para diagnóstico de patologías, se describe la técnica de procesamiento de las imágenes utilizadas para realizar la segmentación y los resultados obtenidos.

Nombre del proyecto: ANÁLISIS DE CARACTERÍSTICAS DE FORMA DEL BACILO DE KOCH PARA DETECCIÓN AUTOMÁTICA DE TUBERCULOSIS EN IMÁGENES DIGITALES.

Autor: Javier Eduardo Ticona Huaroto

Institución: Pontificia Universidad Católica del Perú

Año: Lima, julio del 2017.

Conclusiones:

Se desarrolló un algoritmo de poder identificar y contar bacilos de Koch a través de la clasificación y selección con descriptores de Fourier teniendo un porcentaje de acierto de 96.86%, una especificidad de 91.47% y una sensibilidad de 100%, estos valores son útiles en la práctica, pues esto, implica que el algoritmo desarrollado identificará como bacilo de Koch a las estructuras bacilíferas con bajo o nulo falsos negativos. A demás se obtuvo porcentajes de sensibilidad y acierto (>95%) a partir de 5 descriptores de Fourier, los cuales son menos del 2% de los descriptores iniciales, esto permite dar un resultado muy rápido teniendo en cuenta que el tiempo de ejecución del algoritmo es de 1.7 segundos en promedio.

Nombre del proyecto: MICROSCOPIO AUTOMATIZADO: CONTEO DE BACILOS DE TUBERCULOSIS.

Autor: Juan José Sato Yamada

Institución: Pontificia Universidad Católica del Perú

Año: Lima, agosto del 2013.

Conclusiones:

En este trabajo se presenta un algoritmo el cual permite determinar y contar bacilos de tuberculosis de modo automático, presentes en imágenes obtenidas de muestras de esputo mediante el uso de técnicas de procesamiento de imágenes digitales. Se estudiaron distintos espacios de color para encontrar aquella capa o canal de color que tenga un alto grado de contraste entre las intensidades de color de los píxeles de los bacilos y el fondo de la imagen. Para lo cual se realizó un análisis de los histogramas a través de gráficas de las características operativas de la imagen. Para la segmentación de los bacilos, se implementó la umbralización adaptativa usando la técnica de Otsu para encontrar el óptimo valor umbral. Los objetos detectados son clasificados como no-bacilos o bacilos mediante un árbol de clasificación usando excentricidad y características de área. El algoritmo implementado tiene niveles de especificidad, sensibilidad y exactitud mayores al 90%, teniendo un tiempo de ejecución de 9 segundos por campo (15 minutos de procesamiento para 100 campos). En este contexto, a diferencia de otros trabajos previos, esta investigación se enfocó en implementar un algoritmo tanto de segmentación de los bacilos como de clasificación, para implementarlo en un microscopio automatizado para el diagnóstico en tiempo real y automatizado de la tuberculosis.

Con este objetivo, se desarrolló un algoritmo en el programa Matlab, también en un lenguaje de programación C#, obteniendo programas capaces de interactuar con otros programas para el del control de la cámara digital.

Nombre del proyecto: Estimación de áreas de heridas de leishmaniasis por procesamiento digital de imágenes y su correlación con la evolución al tratamiento

Autor: Juvenal Ormachea Quispe

Institución: Pontificia Universidad Católica del Perú

Año: Lima, agosto del 2011

Conclusiones:

En este trabajo se estimó la variabilidad existente, obteniendo resultados de hasta el 40% de variabilidad en mediciones manuales, una variabilidad alta para establecer con certeza el valor del área medida de la zona afectada por la enfermedad. Se optimizó la técnica de obtención de imágenes dispuestas por el Laboratorio de Imágenes Médicas – PUCP en una investigación previa (Ej. Condiciones de iluminación). El algoritmo automático alcanza establecer el área de forma repetible y este puede ser semejante con métodos de cálculo manuales.

De esta forma, se reconoce la factibilidad de utilización de mecanismos de procesamiento de imágenes para procesar y obtener el área de la lesión generada por leishmaniasis. En pacientes que permitieron o dieron su consentimiento para para aplicar esta técnica, se encontró un porcentaje de disminución del área de la lesión afectada por la leishmaniasis respecto al valor porcentual inicial, de esta manera, es posible ubicar la lesión en uno de los cinco estadios.

Finalmente, el autor de este trabajo recomienda continuar con esta investigación realizando el seguimiento a nuevos pacientes que padezcan de esta lesión al menos al 95% del tiempo de tratamiento para obtener una validación médica. La zona de piel infiltrada por leishmaniasis no pudo ser calculada ya que su clasificación depende de la textura de la piel y no del color. Por lo que se plantea y recomienda usar algún método de ultrasonido que pueda valorar cuantitativamente la rigidez de la piel enferma, de esta forma, es posible calcular el área para piel infiltrada.

2.2. IMAGEN DIGITAL.

Una imagen digital se puede definir como cualquier tipo de imagen que ha sido convertida un formato binario conformado por ceros y unos (Bovik, 2009), (existen ciertos casos en donde la imagen generada directamente en formato binario). Existen muchos tipos de imágenes caracterizadas por cómo se obtienen las mismas, así como de qué tipo de formatos digitales existen para representarlas (por ejemplo; binario, escala de grises, RGB, etc.) (Reategui, 2013).

En términos del lenguaje matemático se puede decir que una imagen digital es una función matemática que toma un valor en cada punto del espacio en el que está definido. En particular una imagen digital de las dimensiones es una representación $f(x, y)$ que se ha discretizado tanto en las coordenadas espaciales como en el brillo, donde x e y representan las coordenadas espaciales y el valor de f un punto cualquiera (x, y) es proporcional al brillo (o nivel de gris) de la imagen en ese punto (Canzio, 2006).

También puede considerarse como una matriz cuyo índice de fila e índice de columna identifican un punto de la imagen y el valor del correspondiente elemento de la matriz indica el nivel de gris en ese punto.

Los elementos de una distribución digital de este tipo se denominan elementos de la imagen o más comúnmente píxeles abreviaturas de su denominación en inglés “Picture Elements”. Es notable que el procesamiento de imágenes no puede producir información a partir de nada, si en el set de datos no existe información concerniente a una aplicación o interpretación en particular, entonces no importa que cantidad de complicadas rutinas de procesamiento apliquemos, no se podrá obtener información.

Es importante tener en cuenta que lo que observamos es una representación gráfica de números; Los sistemas adquieren los datos píxel a píxel, la imagen es guardada como una grilla de píxeles, la radianciación de cada uno de esos píxeles es registrada por el sensor y entonces es digitalizada para permitir su manipulación por parte del computador; El proceso de digitalización transforma datos análogos continuos en datos digitales discretos (Canzio, 2006).

2.3. ESPACIO DE COLOR.

Un espacio de color es una organización de colores, las cuales hacen posible reproducir los colores en una representación parecida a existentes en la naturaleza, los colores están de forma difusa, no se puede saber dónde termina uno y comienza el siguiente (Ong, Yeo, Lee, Venkatesh, & Cao, 2002). En un espacio de color esta gama de colores está acotada en un espacio sincretizado generalmente en tuplas o vectores que contienen la información del color representado (Jiang, Zhou, & SOM, 2004).

Un modelo o espacio de color indica la manera en que un color está definido y es una herramienta importante ya que permite analizar y aprovechar toda la información presente dentro de la imagen: Los espacios de color más utilizados para el procesamiento de imágenes son RGB, HSI, YIQ, CMY, CMYK (Gonzalez & Woods, Digital image processing, 2002). El espacio RGB es usado para monitores de color y para videocámaras de color (Shapiro & Stockman, 2001); está modelado por un cubo unitario (Gonzalez & Woods, Digital image processing, 2002). El modelo de color HSI codifica el color con los atributos perceptuales de tono, saturación, luminancia o intensidad, el cual, el ser humano reconoce en un espacio intuitivo, psicológico.

El modelo YIQ (Shapiro & Stockman, 2001) es usado en las emisiones comerciales de televisión de color, fue una recodificación del espacio RGB realizada para la televisión americana NTSC (National Television System(s) Committee) que tenía que ser compatible con la televisión en blanco y negro. La componente “Y” representa la información de luminancia y ésta es la única componente utilizada por las televisiones en blanco y negro. Las componentes “I” y “Q” denominadas fase y cuadratura contienen la información del color y están desacopladas de “Y”. El modelo YIQ se encuentra en un sistema coordenado cartesiano tridimensional y es un sub espacio con forma de poliedro convexo (Foley & Van Dam, 1982). Un tipo del espacio YIQ en el proceso de imágenes, es la visualización del histograma de canal “Y”, con el cual sólo es posible normalizar los niveles de brillo de la imagen. El espacio CMY (acrónimo de Cian, Magenta, Yellow) es usado en impresión (Castleman, 1996), los colores primarios son magenta, amarillo y cian, siendo el color negro creado por la combinación de todos los colores y el blanco resultado de

la ausencia de color. La mezcla de los colores cian, magenta y amarillo da origen a un color negro turbio, por lo que se utiliza tinta negra.

Al agregarse dicha tinta el modelo es llamado espacio CMYK (K, key -negro-), los modelos CMYK y CMY están basados en la absorción de la luz, el color que presenta un objeto corresponde a aquella zona de la luz que incide sobre este y que no es absorbida por el objeto (Alonzo, 2009).

2.3.1. ESPACIO DE COLOR RGB.

Los seres humanos perciben los colores gracias a células encargadas de detectar diferentes longitudes de onda de la luz, de esta forma se tienen células especializadas en detectar las tonalidades rojas, verdes y azules (Ong, Yeo, Lee, Venkatesh, & Cao, 2002), a estos tres colores se les llama colores primarios y es partir de su mezcla en diferentes porcentajes que se obtienen los demás colores del espectro visibles, este espacio de color se llama RGB (Red, Green, Blue) (Wang & Dong, 2012), es ampliamente utilizado desde la obtención hasta el despliegado de la imagen por dispositivos digitales.

El espacio RGB está basado en el sistema de coordenadas Cartesiano donde los colores son puntos definidos por vectores que se extienden desde el origen, el negro está en el origen $[0,0,0]$ y el blanco está ubicado en la esquina opuesta al origen $[1,1,1]$, ver Ilustración 1: Espacio de color RGB.

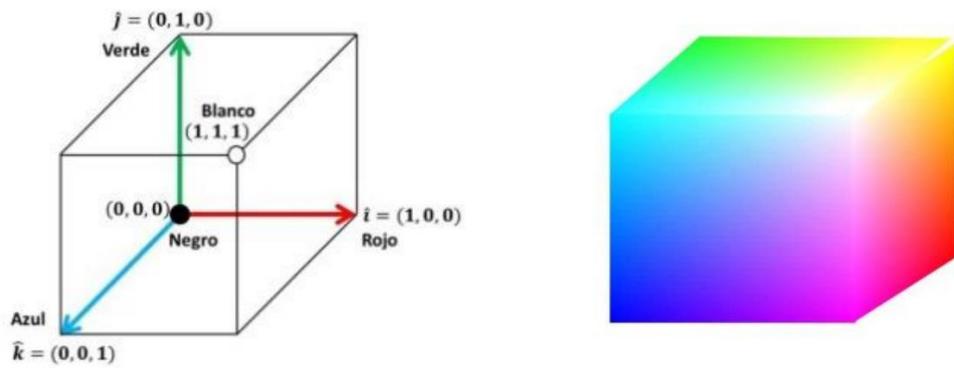


Ilustración 1: Espacio de color RGB.

Fuente: (Contreras, 2016).

El color de un pixel p se escribe como una combinación lineal de los vectores base de verde, rojo y azul (Wang & Dong, 2012):

$$\phi_p = r_p i + g_p j + b_p k$$

En donde r_p , g_p y b_p son los componentes de rojo, verde y azul, respectivamente. La orientación y magnitud de un vector de color define la cromaticidad e intensidad del color, respectivamente (Wang & Dong, 2012), este espacio es sensible a la iluminación; es decir a pesar de que dos vectores tengan la misma cromaticidad, estos representan diferentes colores si sus intensidades son diferentes (Contreras, 2016).

Las cromaticidades correspondientes al rojo, verde y azul apuntan hacia las esquinas $[1,0,0]$, $[0,1,0]$ y $[0,0,1]$, mientras que las cromaticidades cian, magenta y amarillo también conocidos como colores secundarios, apuntan hacia el resto de las esquinas que resultan al combinar dos colores primarios en igual medida, $[1,1,0]$, $[0,1,1]$ y $[1,0,1]$ (Contreras, 2016).

2.3.2. ESPACIO DE COLOR HSV.

Si bien los seres humanos cuentan con células distintas para cada color primario y la forma en la que se obtienen las imágenes digitales se basa en ello, no es precisamente de esta forma como el cerebro percibe los colores, un color está formado de tres componentes importantes, como son:

Cromaticidad: la cualidad que se puede calificar como verde, amarillo, etc.

Saturación: todo color en su saturación más baja tiende a un tono pálido, a mayor saturación se tendrá un color más vivo.

Luminiscencia: se refiere al brillo del color, a menor brillo el color tenderá a negro.



Ilustración 2: Representación gráfica del espacio de color HSV

Fuente: (Contreras, 2016).

La representación de color en el espacio HSV emula la percepción humana del color ya que la cromaticidad es desacoplada de la intensidad (Wang & Dong, 2012). En este espacio el color de un pixel p se representa por sus componentes de tono (h), saturación (s) e intensidad (v):

$$\varphi_p = [h_p, s_p, v_p]$$

El tono es la cromaticidad, la saturación es el nivel de blancura del color y la intensidad es el brillo del color, en la siguiente figura el espacio de color HSV muestra la apariencia del espacio HSV, los rangos de valores reales

del tono, saturación e intensidad son $[0,2\pi]$, $[0,1]$ y $[0,255]$, respectivamente.

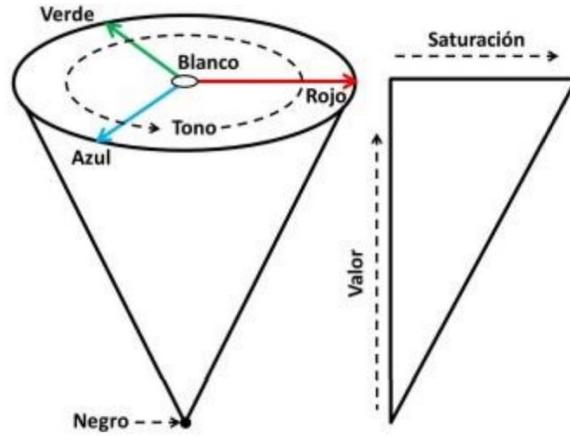


Ilustración 3: Espacio de color HSV.

Fuente: (Contreras, 2016).

El espacio HSV tiene forma de cono, como se ve en la Ilustración 3, donde la cromaticidad está distribuida en la circunferencia de la base del cono, la cual se representa con valores en el rango $[0,2\pi] \subset \mathbb{R}$.

La saturación es la distancia al eje del brillo, y la intensidad es la altura en el eje que parte del centro de la circunferencia. La saturación y la intensidad están en el intervalo $[0,1] \subset \mathbb{R}$. La naturaleza de los colores no es lineal, de aquí no se pueda comparar los colores empleando la distancia Euclidiana. Por otra parte, en el espacio RGB los cambios de iluminación y saturación afectan considerablemente la representación de los colores ya que no los contempla explícitamente. Es por esto que en muchos trabajos de procesamiento de imágenes de color transforman las imágenes capturadas en el formato RGB a un espacio de color que no tengan las mismas debilidades del espacio RGB, como el espacio HSV, y así procesarlas

exitosamente para que finalmente sean mapeadas de regreso al espacio RGB para su visualización (Contreras, 2016).

2.4. DETECTOR DE BORDE.

El proceso de detección de bordes es uno de los más importantes dentro del procesamiento digital de imágenes. Dentro del CENIDET (Centro Nacional de Investigación y Desarrollo Tecnológico) se ha involucrado este proceso en la mayoría de los trabajos de Visión Artificial (Moctezuma, 2009).

El borde de una imagen digital se podría definir como la transición entre dos regiones de niveles de gris significativamente distintos. Esta suministra una importante información sobre las fronteras de los objetos y puede ser utilizada para segmentar la imagen, reconocer objetos, etc. Es así que una buena detección de bordes es fundamental para la visión artificial orientada al reconocimiento de objetos.

Si la detección es pobre o da bordes donde no los hay, el programa puede llegar a reconocer una placa donde no la hay. La mayoría de las técnicas para detectar bordes emplean operadores locales basados en distintas aproximaciones discretas de la primera y segunda derivada de los niveles de grises de la imagen (Paredes & Guerrero, 2012).

Para la etapa de detección de borde del presente trabajo se utilizaron dos algoritmos, el Operador Sobel y el Detector de bordes Canny.

2.4.1. DETECTOR DE BORDE DE CANNY.

El algoritmo de Canny es usado para detectar todos los bordes existentes en una imagen. Este algoritmo está considerado como uno de los mejores

métodos de detección de contornos mediante el empleo de máscaras de convolución y basado en la primera derivada. Los puntos de contorno son como zonas de píxeles en las que existe un cambio brusco de nivel de gris. En el tratamiento de imágenes, se trabaja con píxeles y en un ambiente discreto, es así que en el algoritmo de Canny utiliza máscaras, las cuales representan aproximaciones en diferencias finitas (Paredes & Guerrero, 2012).

En 1986, Canny propuso un método para la detección de bordes, el cual se basaba en tres criterios, estos son:

Primero: detección expresa el hecho de evitar la eliminación de bordes importantes y no suministrar falsos bordes.

Segundo: El criterio de localización establece que la distancia entre la posición real y la localizada del borde se debe minimizar.

Tercero: una respuesta que integre las respuestas múltiples correspondientes a un único borde.

FUNCIONAMIENTO:

Uno de los métodos relacionados con la detección de bordes es el uso de la primera derivada, la que es usada por que toma el valor de cero en todas las regiones donde no varía la intensidad y tiene un valor constante en toda la transición de intensidad. Por tanto un cambio de intensidad se manifiesta como un cambio brusco en la primera derivada (Pajares & De La Cruz, 2001), característica que es usada para detectar un borde y en la que se basa el algoritmo de Canny, este algoritmo consta de tres grandes pasos:

Primer paso “Obtención del gradiente”:

Para la obtención del gradiente, lo primero que se realiza es la aplicación de un filtro gaussiano a la imagen original con el objetivo de suavizar la imagen y tratar de eliminar el posible ruido existente. Sin embargo, se debe de tener cuidado de no realizar un suavizado excesivo, pues se podrían perder detalles de la imagen y provocar un pésimo resultado final. Este suavizado se obtiene promediando los valores de intensidad de los píxeles en el entorno de vecindad con una máscara de convolución de media cero y desviación estándar.

Segundo paso “Supresión no máxima al resultado del gradiente”.

Este paso sirve de entrada para generar una imagen con los bordes adelgazados. El procedimiento es el siguiente: se consideran cuatro direcciones identificadas por las orientaciones de 0°, 45°, 90° y 135° con respecto al eje horizontal. Para cada píxel se encuentra la dirección que mejor se aproxime a la dirección del ángulo de gradiente.

Tercer paso: “Histéresis de umbral a la supresión no máxima”.

La imagen obtenida en el paso anterior suele contener máximos locales creados por el ruido. Una solución para eliminar dicho ruido es la histeresis del umbral. El proceso consiste en tomar la imagen obtenida del paso anterior, tomar la orientación de los puntos de borde de la imagen y tomar dos umbrales, el primero más pequeño que el segundo.

Para cada punto de la imagen se debe localizar el siguiente punto de borde no explorado que sea mayor al segundo umbral. A partir de dicho punto

seguir las cadenas de máximos locales conectados en ambas direcciones perpendiculares a la normal del borde siempre que sean mayores al primer umbral. Así se marcan todos los puntos explorados y se almacena la lista de todos los puntos en el contorno conectado.

Cuarto paso.

Frecuentemente, es común que un cuarto y último paso se realice en el algoritmo de Canny, este paso consiste en cerrar los contornos que pudiesen haber quedado abiertos por problemas de ruido.

Un método muy utilizado es el algoritmo de Deriche y Cocquerez. Este algoritmo usa como entrada una imagen binarizada de contornos de un pixel de ancho. El algoritmo busca los extremos de los contornos abiertos y sigue la dirección del máximo gradiente hasta cerrarlos con otro extremo abierto. El procedimiento consiste en buscar para cada pixel uno de los ocho patrones posibles que delimitan la continuación del contorno en tres direcciones posibles. Esto se logra con la convolución de cada pixel con una máscara específica.

Cuando alguno de los tres puntos es ya un pixel de borde se entiende que el borde se ha cerrado, de lo contrario se elige el pixel con el valor máximo de gradiente y se marca como nuevo pixel de borde y se aplica nuevamente la convolución. Estos pasos se repiten para todo extremo abierto hasta encontrar su cierre o hasta llegar a cierto número de iteraciones determinado (Paredes & Guerrero, 2012).

2.4.2. DETECTOR DE BORDE DE SOBEL.

El operador Sobel es una técnica basada en el gradiente, es decir, se logra la localización de los puntos en los que se produce la variación de intensidad se aplica la primera derivada y se busca los picos más grandes.

Los operadores basados en el gradiente asumen que los bordes de una imagen son pixeles con un alto gradiente.

Un rápido cambio de intensidad en alguna dirección dada por el ángulo del vector gradiente puede observarse en los pixeles de los bordes. En la

Ilustración 5. Se muestra un pixel de borde ideal con su correspondiente vector de gradiente (Paredes & Guerrero, 2012).

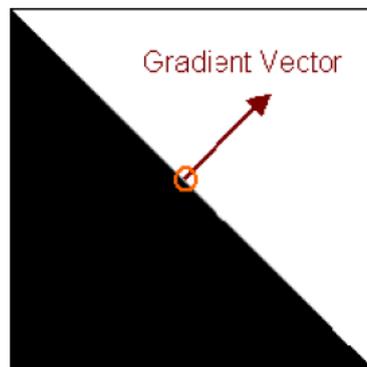


Ilustración 4: Gradiente de un píxel de borde.

Fuente: (Paredes & Guerrero, 2012).

En el píxel, la intensidad cambia de 0 a 255 en dirección del gradiente. La magnitud del gradiente indica que tan marcado está el borde. Si calculamos el gradiente en región es uniformes obtendremos un vector de valor 0, lo que significa que no hay pixeles de borde (Catarina, 2018).

Un píxel de borde se describe mediante dos características importantes:

1. Intensidad del borde, que es igual a la magnitud del gradiente.
2. Dirección del borde, que es igual al ángulo del gradiente.



Ilustración 5: Reconocimiento de contornos mediante el operador Sobel.

Fuente: (Paredes & Guerrero, 2012).

Sobel es un operador discreto, es decir en un conjunto finito de puntos donde se puede tomar por separados cada punto, en este caso actúa sobre los valores de cada pixel y los relaciona con los de su entorno inmediato analizando la velocidad de cambio en cada dirección. Calcula lo que se conoce como gradiente de la función de intensidad de una imagen (Aliaga, 2018).

2.5. OPERACIONES MORFOLÓGICAS.

Se le conoce como morfología porque tiene como objetivo el análisis de las formas de los objetos. Además, se le conoce como matemática debido a que se basa en la teoría de conjuntos (Soille, 1999).

Dentro de la morfología matemática, los operadores de dilatación y erosión son los básicos y a partir de estos se pueden elaborar otros más complejos.

A continuación, se presenta la definición de ambos operadores para el caso de imágenes binarias (Valega Pacora, 2013).

2.5.1. DILATACION.

En general, los operadores morfológicos son operadores locales o de vecindad, ya que el resultado para cada pixel es definido por los pixeles que lo rodean, de acuerdo a una vecindad que es definida por un elemento estructural.

El elemento estructural es otro conjunto de forma conocida, que es seleccionado de acuerdo a un conocimiento previo de la geometría de las estructuras relevantes e irrelevantes de la imagen que se desea operar.

En la siguiente ecuación se muestra la definición matemática de la dilatación, donde X representa el conjunto correspondiente a la imagen y B el elemento estructural.

$$\delta_B(X) = \{x \mid B_x \cap X \neq \emptyset\}$$

La interpretación de esta ecuación consiste en ubicar el origen del elemento estructural en cada uno de los pixeles de la imagen y verificar si el elemento estructural intercepta a la imagen (Soille, 1999). El resultado de esta transformación es el conjunto de puntos que cumplen con esta condición.

Un ejemplo de dilatación se muestra en la Ilustración 6.

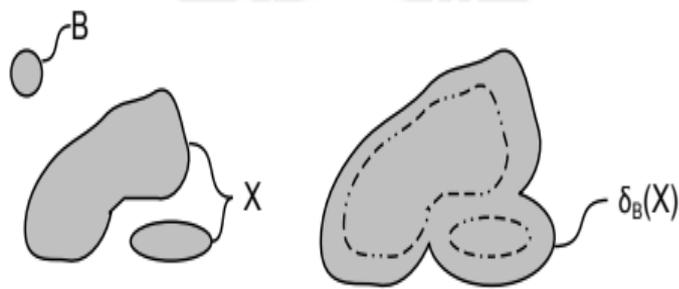


Ilustración 6: Dilatación para un elemento estructural con forma de disco.

Fuente: (Valega Pacora, 2013).

2.5.2. EROSION.

La erosión consiste en desplazar un elemento estructural por cada pixel de la imagen. En este caso, la condición que se debe cumplir es que el elemento estructural este contenido en la imagen (Soille, 1999).

Un ejemplo de erosión se muestra en Ilustración 7. La definición matemática de este operador se muestra en la siguiente ecuación.

$$\mathcal{E}_B(X) = \{x \mid B_x \subseteq X\}$$

Es importante mencionar que existe una relación entre este operador y la dilatación, conocida como dualidad. De acuerdo a esta propiedad, la erosión es equivalente al complemento de la dilatación del complemento de la imagen. Esto se muestra en a siguiente ecuación (Valega Pacora, 2013).

$$\mathcal{E}_B(X) = (\delta_B(X^c))^c$$

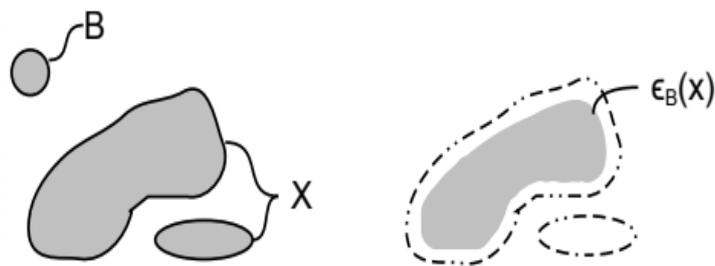


Ilustración 7: erosión para un elemento estructural con forma de disco.

Fuente: (Valega Pacora, 2013) .

2.6. TUBERCULOSIS.

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa que suele afectar a los pulmones y es causada por una bacteria (*Mycobacterium tuberculosis*) se transmite de una persona a otra a través de gotículas generadas en el aparato respiratorio de pacientes con enfermedad pulmonar activa; La tuberculosis es una infección bacteriana crónica de distribución mundial, es producida por cuatro microorganismos de la familia de las micobacterias. *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*), *M. Bovis*, *M. Africanum*, *M. Microti*, fenotípica y genéticamente similares, aunque solo *Mycobacterium tuberculosis* tiene importancia epidemiológica, ya que los otros raramente producen enfermedad en el humano (Huamán & Vásquez, 2000).

2.7. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL BACILO.

Los bacilos acidorresistentes tienen entre 1 y 10 μm de largo. Con la coloración de Ziehl Neelsen se observan como bastoncitos delgados, ligeramente curvos, rojo fucsia, destacándose claramente contra el fondo azul.

En los extendidos teñidos con auramina los bastoncitos se observan con fluorescencia amarilla, a veces se observan con gránulos o cuentas intensamente coloreados en el interior, en la muestras de esputo pueden presentarse aislados, apareados o agrupados.

Es muy difícil distinguir el bacilo de la tuberculosis de otras micobacterias por examen microscópico, algunas micobacterias que no son micobacterias tuberculosis pueden aparecer como bastones muy largos o como bacilocos.

Otros microorganismos pueden presentar distintos grados de ácidorresistencia, como *Rhodococcus* spp., *Nocardia* spp., *Legionella* spp. y los quistes de *Críptosporidio* e *Isospora* spp, se observan como cocos, bacterias con formas variadas (pleomórficas), filamentos que a veces están cortados o como esferas de gran tamaño si se las compara con las bacterias.

De todas formas es poco frecuente encontrar más de 10 microorganismos ácidos alcohólicos resistentes diferentes a *M. tuberculosis* en las muestras de esputo de los SR.

Cuando el baciloscopista observa alguno que no tiene forma de bastón debe consultar al supervisor (OPS, 2008).

2.8. TINCIÓN DE ZIEHL-NEELSEN.

Las micobacterias como *M. Tuberculosis* y *M. marinum* y los parásitos coccídeos como *Cryptosporidium* poseen una característica peculiar, las paredes celulares de estas bacterias contienen ácidos grasos, por ejemplo los ácidos micólicos, que les confieren la propiedad de ser ácido-alcohol resistente; es decir, una vez sido expuestos a la influencia de un colorante primario como la fucsina de Ziehl y a un

calentamiento posterior para la fijación del color respectivo, sus paredes celulares adquieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido, debido a ello a este tipo de bacterias se les denomina ácido-alcohol resistentes (BAAR). Esta propiedad permite la fácil distinción de las bacterias ante un fondo que contraste con el color adquirido mediante la coloración.

De este procedimiento es el que se vale la baciloscopía para realizar el conteo respectivo de los bacilos para dar un diagnóstico inmediato y económico; inmediato debido a la sencillez del procedimiento y económico porque con respecto a otras esta implica un gasto mínimo en el uso de materiales (Aquino Camarena, 2011).

Para realizar la tinción de Ziehl Neelsen, se necesitan seguir los siguientes pasos (INS, 2018) “Instituto Nacional de Salud”:

1. Cubrir totalmente la superficie del extendido con fucsina básica fenicada, filtrada en el momento de efectuar la tinción, no use colorante sin filtrar.



Ilustración 8: Coloración con Fucsina.

Fuente: (Pandzic Saba, 2013) .

2. Calentar suavemente con la llama del mechero de alcohol o un hisopo de algodón humedecido en alcohol hasta la emisión de vapores, repetir el proceso por tres

veces, no debe hervir la preparación, si el volumen del colorante disminuye por evaporación, debe agregarse más, hasta que el extendido este totalmente cubierto y dejar enfriar. El tiempo mínimo de coloración con fucsina es de 5 minutos.



Ilustración 9: Calentamiento.

Fuente: (Pandzic Saba, 2013).

3. Eliminar la fucsina tomando la lámina por el extremo numerado entre el dedo pulgar y el índice o con una pinza, inclinándola hacia adelante y dejando caer agua corriente a baja presión sobre la parte que no tiene el extendido.



Ilustración 10: Primer lavado.

Fuente: (Pandzic Saba, 2013).

- Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con la solución de alcohol ácido durante 2 minutos hasta obtener una coloración rosa pálido.

De ser necesario decolorar nuevamente, efectuando movimientos en vaivén de la lámina.



Ilustración 11: Decoloración con alcohol ácido.

Fuente: (Pandzic Saba, 2013).

- Una vez eliminado el alcohol ácido lavar nuevamente la lámina con agua abaja presión, cuidando de no desprender la película que formó el extendido.



Ilustración 12: Segundo lavado.

Fuente: (Pandzic Saba, 2013)

- Cubrir la superficie del extendido con el colorante azul de metileno, previamente filtrado, durante 30 segundos a un minuto.

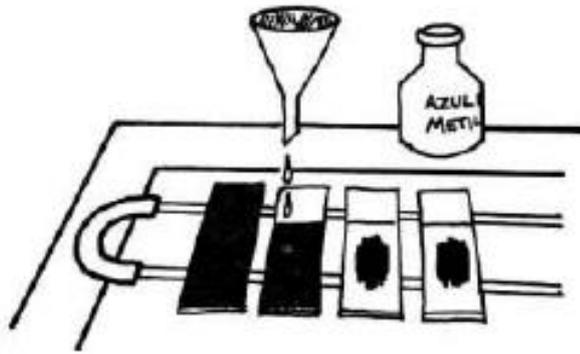


Ilustración 13: Coloración de Fondo con azul de metileno.

Fuente: (Pandzic Saba, 2013).

7. Eliminar el azul de metileno y lavar la lámina con agua a baja presión, por ambos lados (el que tiene el extendido, como el otro lado).



Ilustración 14: Tercer lavado.

Fuente: (Pandzic Saba, 2013).

8. Colocar la lámina coloreada sobre el soporte y dejar secar al medioambiente.

2.9. CAMPOS LEÍDOS.

Los campos leídos deben ser “campos microscópicos útiles”. Se considera campo microscópico útil a aquel en el cual se observan células bronquiales (leucocitos, células ciliadas) o fibras mucosas, que aparecen teñidos de azul, los campos sin estos elementos no deben ser considerados para contar el total de campos observados, a menos que contengan BAAR (OPS, 2008).

2.10. EMGUCV.

EmguCV es una plataforma cruzada .Net ligada a la librería de Intel OpenCV de procesamiento de imágenes, permitiendo que las funciones de OpenCV sean llamadas desde .Net, compatible con lenguajes como C#, VB, VC, etc. EmguCV está escrito en C#, puede ser compilado en forma Mono (Monodevelop) por lo cual puede ejecutarse en cualquier plataforma que contenga la forma Mono, incluyendo Linux/Solaris y Mac. Es necesario descargar todos los dlls que vienen incluidos en EmguCV para el uso de esta plataforma (Espinoza Olgún & Jorquera Guillen, 2015).

CAPÍTULO III

TECNICAS DE PROCESAMIENTO DIGITAL.

3.1. DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN.

En este capítulo se detallaran los algoritmos de procesamiento de imágenes utilizados para el conteo e identificación de bacilo de tuberculosis en muestras de esputo.

Para tal fin se:

1. Describirá los módulos existentes con sus técnicas utilizadas de procesamiento de imágenes, para la implementación del algoritmo de detección de TBC.
2. Detallara la secuencia de algoritmos (RGB, Morfología y Bordes) que realice el conteo automático de bacilos y un algoritmo de identificación de dichos bacilos.
3. Se detalla el tiempo de conteo e identificación de bacilos.

3.2. ETAPA DE COMPARACIÓN DE ALGORITMOS A SER COMPARADOS.

En este punto se detalla los algoritmos de procesamiento de imagen a utilizar para implementar el algoritmo de conteo e identificación de bacilos, además se detalla el porqué de la secuencia de estos algoritmos dentro del algoritmo de identificación y conteo, estas etapas son:

1. Análisis de espacios de color (filtro de Color).
2. Aplicación de operaciones morfológicas (corrección de líneas detectadas).
3. Aplicación de detectores de borde como el detector de borde de Sobel y Canny (delimitación y detección de bordes o líneas).

Las secuencias de estas tres etapas se deben a que:

1. Primero debemos establecer un espacio de color donde estén los posibles bacilos, los cuales debido a la técnica de Ziehl-Neelsen son de color fucsia, además el fondo de la imagen es de color azul claro, para el ojo humano es evidente identificar este espacio de trabajo, pero para el tratamiento digital, aplicando, un filtro de color podemos definir posibles bacilos, los cuales estén en un rango de color (fucsia), es así que lo lógico sería aplicar primero un filtro de color para localizar todos los posibles objetos que sean bacilos o no lo sean.
2. Segundo de lo que se trata en esta etapa es mejorar el espacio de trabajo y es en este sentido en el que se tiene dos opciones dilatar o erosionar los objetos dentro de este espacio.

Si a la imagen digitalizada de una muestra de TBC se aplica primero un filtro de forma, se obtendría lo opuesto a aquello que se desea obtener (no mejorar imagen), ya que la imagen a procesar no estaría en escala de blanco y negro, esto último es pre requerimiento fundamental para mejorar o definir la imagen de posibles bacilos, ya que mejoraría imágenes de interés y de no interés, esto debiéndose a que este filtro resalta los objetos diferentes al fondo.

3. Tercero la última secuencia de filtros a aplicar es el de borde ya que básicamente este agrupa los puntos dispersos a los objetos de interés y esto se consigue aplicando algoritmos de borde, entonces es natural imaginar que si primero se aplica a la imagen primigenia un algoritmo de borde este agrupara los puntos dispersos a los objetos de interés, formando objetos de

no interés, es en este sentido que la secuencia lógica de algoritmos aplicados a la imagen primigenia es color, forma y borde.

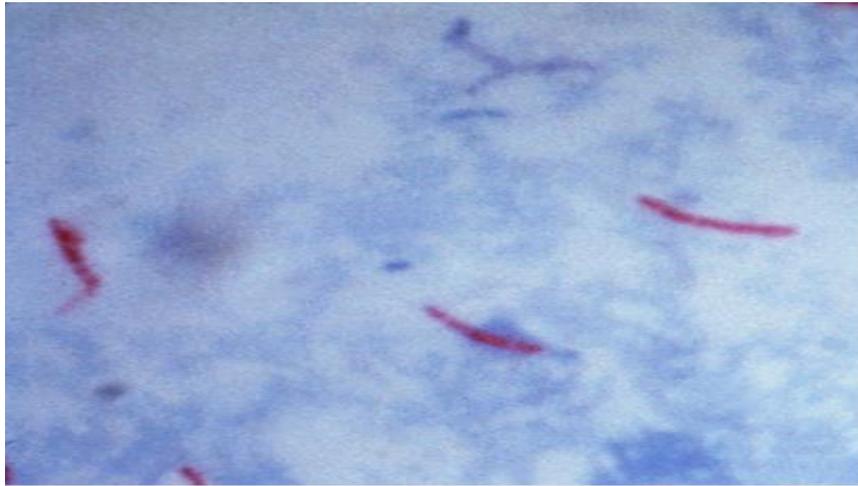


Ilustración 15: Imagen primigenia.

Fuente: elaboración propia.

En los siguientes ítems (3.3, 3.4 y 3.5) se realizará un análisis de algoritmos para cada filtro con una secuencia ya definido, para el primer módulo (filtro de color) se utilizó filtro RGB y HSV, en seguida se aplicó operaciones de morfología (dilatación y erosión), finalizándose aplicó los algoritmos de borde.

3.3. FILTRO DE COLOR.

La técnica de trabajo consiste en realizar un análisis visual de las imágenes procesadas con el modelo RGB, HSV, luego realizar un análisis de los histogramas para cada modelos, esto con la finalidad de visualizar un modelo de color que presente mayor contraste entre los píxeles de fondo y el color característico de los bacilos, a continuación se detallan las imágenes con estos dos filtros.

Como ya se dijo de estos dos modelos de color se tienen que seleccionar el más idóneo para mejorar el área o espacio de trabajo, para lo cual se procedió a observar

y deducir la imagen que presenta un adecuado área o espacio de trabajo luego de aplicar uno de los algoritmos de color.

Además de esto se obtendrá un histograma de cada uno de estos métodos para determinar el método que presenta la mayor posibilidad de obtener más objetos de interés.

3.3.1. FILTRO HSV.

Este modelo de color es considerado más cercano que el modelo de color RGB en la forma en que las personas describen las sensaciones de color.

El modelo de color HSV obtiene el nombre de las siglas en inglés (Hue, Saturation, Value) que en español significan Tonalidad, Saturación, Valor, respectivamente; es una transformación no lineal del modelo de color RGB, y los colores son una combinación de los tres valores: Tonalidad, Saturación o cantidad de color y su valor.

El resultado de aplicar este filtro a la imagen muestra de TBC es la siguiente:

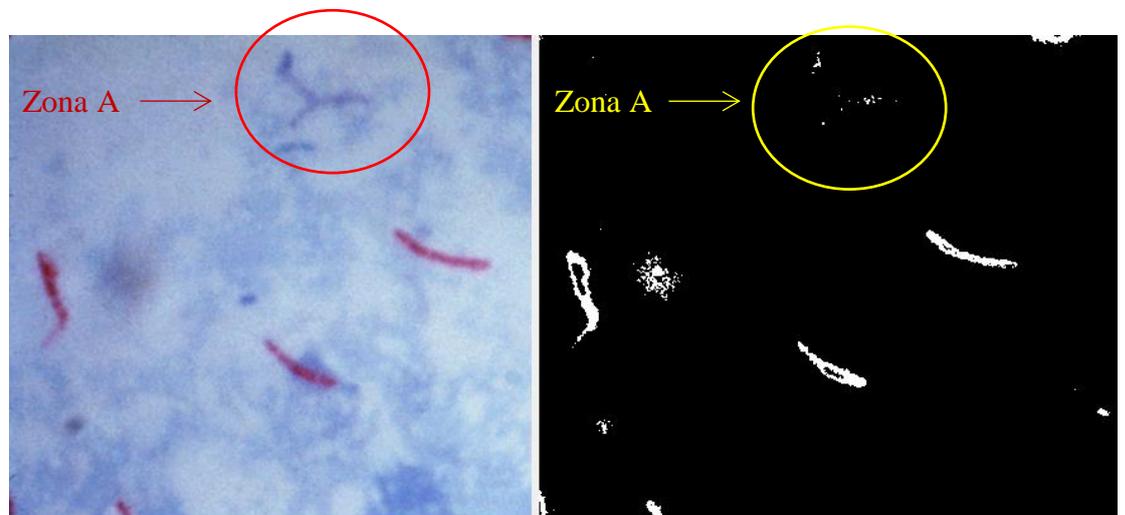


Ilustración 16: Imagen de muestra de bacilos con filtro HSV.

Fuente: elaboración propia

En esta imagen, se aprecia la “zona A”, donde si se compara con más detenimiento con la imagen original sin ningún tipo de filtro, se puede notar que el filtro HSV no capta posible objetos de interés, ya que el proceso de coloración de la muestra posiblemente no fue la adecuada o simplemente la reacción de fluorescencia en o los bacilos por alguna explicación química no fue la esperada (primera imagen y/o imagen primigenia), a pesar de esto, se puede apreciar un cumulo de bacilos conglomerados en la “Zona A”.



Ilustración 17: Zona A de la muestra original de bacilo.

Fuente: elaboración propia

El hecho de que el modelo HSV no detecte la “Zona A”, quizá sea debido a que el proceso de la técnica de tinción de Ziehl-Neelsen no haya sido la adecuada (tal como se aprecia en la Zona A de la Ilustración 17) y el rango de color más tienda al color de fondo (celeste y/o azul claro), haciendo que los pixeles de fondo se confundan con los pixeles de los objetos de interés. Para separar los objetos de interés con el fondo de la imagen este algoritmo (algoritmo HSV) permite establecer un rango de valores, los cuales se pueden apreciar en la siguiente imagen.

Tabla 1: Técnica utilizada para convertir imagen primigenia en HSV.

```
private void hSVToolStripMenuItem_Click(object sender, EventArgs e)
{
    OpcionesHSV HSV = new OpcionesHSV(this);
    HSV.Show();
}
public void aplicarHSV(
    int HueLow,
    int SatLow,
    int ValLow,
    int HueHigh,
    int SatHigh,
    int ValHigh)
{
    Image<Gray, Byte> m_imgThreshold;
    m_imgThreshold = new Image<Gray, Byte>(img_input.Size);
    Image<Hsv, Byte> m_imgSource;
    m_imgSource = img_input.Convert<Hsv, Byte>();
    imageBox2.Image = m_imgSource;
    m_imgThreshold = m_imgSource.InRange(new Hsv(HueLow,
    SatLow, ValLow), new Hsv(HueHigh, SatHigh, ValHigh));
    imageBox2.Image = m_imgThreshold;
    Bitmap tmp = m_imgThreshold.Bitmap;
    calcular_BN(tmp);
}
```

Fuente: elaboración propia

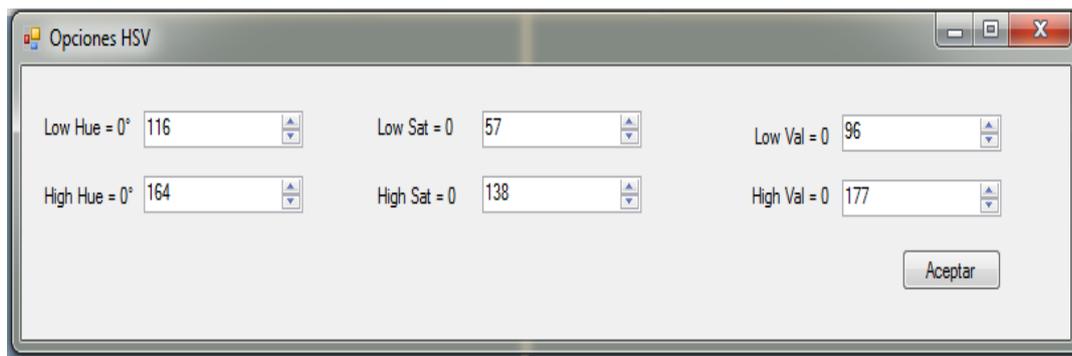


Ilustración 18: valores de imagen primigenia para filtro HSV.

Fuente: elaboración propia.

Los resultados de la Ilustración 18 se obtuvieron por observación, ya que se hizo variar estos valores hasta encontrar el o los valores que permita visualizar algún rastro de los bacilos visualizados en la Zona A de la Ilustración 16.

3.3.2. FILTRO RGB.

Teniendo claro los módulos del presente proyecto de investigación, se explican con detalles cada una de ellas, comenzando por el proceso de adquisición de la imagen.

En esta etapa se hace una captura del entorno a analizar, dicha captura puede ser tomada con una cámara fotográfica acoplada a un microscopio de 100 X (ver ítem “3.2. MATERIALES”).

Sin embargo, esta etapa no consta solamente de la adquisición en sí, también se debe tener en cuenta la iluminación del ambiente de tal forma que no se alteren las propiedades de la imagen a analizar.

Por lo tanto, es importante tener en cuenta la realización de un sistema de iluminación adecuado para la adquisición de la imagen.

Bajo este contexto se aplicó el espacio o modelo de color RGB, el cual usa 3 colores Rojo, Verde y Azul, como colores base y obtiene los demás colores por medio de la combinación de intensidades de estos colores base.

En la Ilustración 19 se observa la imagen que será procesada para los diferentes modelos de color, en este caso particular imagen filtrada por el modelo de color RGB.

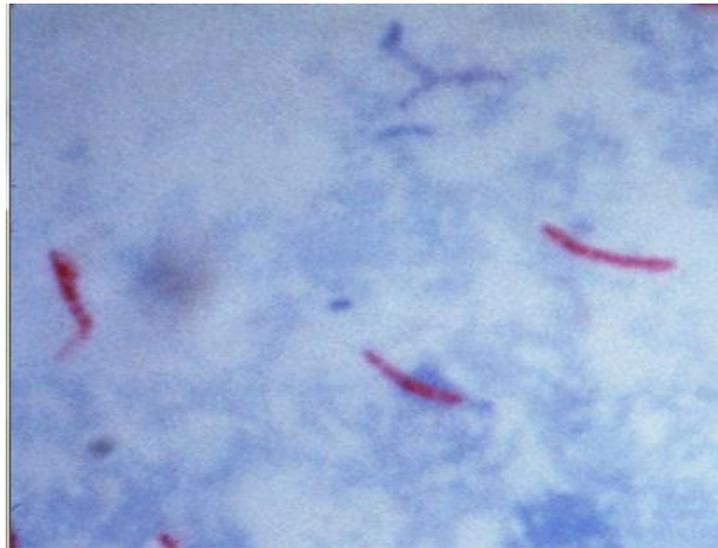


Ilustración 19: Imagen primigenia, sin filtro de color.

Fuente: elaboración propia.

Tabla 2: Técnica utilizada para convertir imagen primigenia en RGB.

```
public void AplicarFiltroBGR(int Bi, int Gi, int Ri, int Bs, int Gs, int Rs)
{
    if (img_input == null)
    {
        return;
    }
    else
    {
```

```

Image<Gray, byte> img_Filtrada = new Image<Gray,
byte>(img_input.Width, img_input.Height);
img_Filtrada = img_input.InRange(new Bgr(Bi, Gi, Ri), new
Bgr(Bs, Gs, Rs));
imageBox2.Image = img_Filtrada;
Bitmap tmp = img_Filtrada.Bitmap;
    calcular_BN(tmp);
}
}
private void bGRToolStripMenuItem_Click(object sender, EventArgs e)
{
    OpcionesBRG op = new OpcionesBRG(this);
    op.Show();
}

```

Fuente: elaboración propia.

En la siguiente ilustración se aprecia los resultados de filtrar la imagen primigenia con el filtro de color RGB.

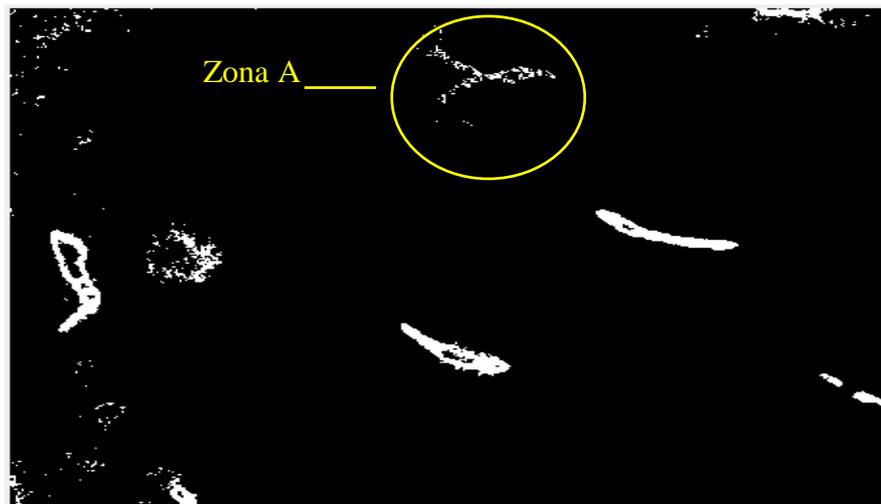


Ilustración 20: Imagen primigenia con filtro de color RGB.

Fuente: elaboración propia.

En la siguiente imagen se puede apreciar los detalles de la imagen primigenia filtrada con el modelo de color RGB, en donde los detalles de la representación RGB de la imagen primigenia es alentadora ya que en esta misma ilustración se aprecia un conjunto de puntos (Zona A) que es casi imperceptible para el ojo humano.

Pero este modelo permite visualizar este detalle, que posiblemente sean objetos de interés, en el análisis del filtro HSV, se vio esta misma zona (Zona A), y es un punto de partida para afirmar que el modelo RGB presenta características de la imagen primigenia que HSV lo pasa desapercibido.

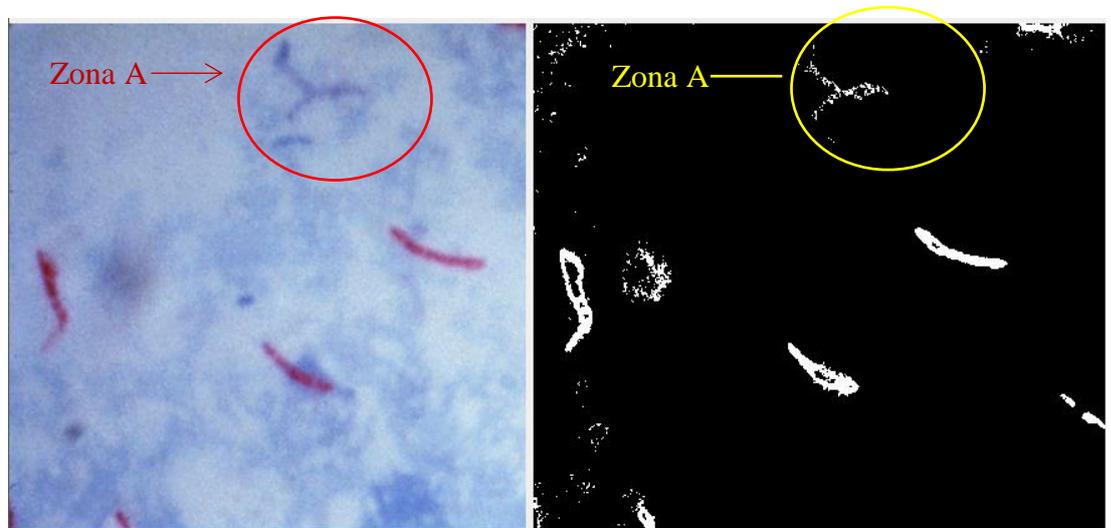


Ilustración 21: Objetos de interés por filtro de color RGB.

Fuente: elaboración propia.

Cabe mencionar que el filtro RGB es un modelo de color basado en lo que se conoce como síntesis aditiva, con lo que es posible representar un color por la mezcla por adición de los tres colores primarios con los que se forma: rojo, verde y azul. Le asignamos un valor a cada uno de los colores primarios para indicar con qué proporción se mezcla cada color. Así, por ejemplo, el valor 0 significa que no interviene en la mezcla, y en la medida que ese valor

aumenta, aportará más intensidad a la mezcla, hasta llegar al valor 255 o 1 si se normaliza. El valor de cada color primario se representa con un byte por lo que su valor puede llegar hasta 255.

Para el presente proyecto se filtró todos aquellos colores contenidos en la imagen primigenia que están contenidos entre los valores de límite inferior (110, 60, 115) y límite superior (200, 135, 190), lo cual representa el color de la reacción química que presenta el bacilo cuando se le aplica la técnica de tinción de Ziehl-Neelsen.

En la siguiente figura se aprecia el cuadro de valores aplicados en el filtro de color de la imagen primigenia, estos valores se obtuvieron variando el límite inferior y superior, hasta encontrar valores que sea lo más similar al color de bacilo. El espacio de color que este fuera de este límite será el espacio de fondo (negro), el espacio de color que este dentro de este será considerado como blanco.



Ilustración 22: Límites de color RGB utilizados.

Fuente: elaboración propia.

Los resultados de la Ilustración 22 se obtuvieron por observación, ya que se hizo variar estos valores hasta encontrar el o los valores que permita visualizar algún rastro de los bacilos visualizados en la Zona A de la Ilustración 19 (imagen primigenia).

3.3.3. HISTOGRAMAS DE FILTROS DE COLOR.

En este punto se realizará una comparación de dos histogramas, una procedente de la imagen con filtro de color RGB y la otra procedente de la imagen con filtro HSV, esta comparación permite conocer cuál de los dos modelos de color permiten obtener áreas de trabajo adecuada, es decir cuál de los dos nos brindaran más detalles de la imagen original, para en adelante aplicar los algoritmos de morfología y de borde.

En las dos siguientes ilustraciones se puede apreciar para una misma imagen su histograma respectivo para cada una de los modelos de color analizados (RGB y HSV), estos valores son los siguientes:

Los valores para el Histograma RGB son para la imagen primigenia con filtro de color RGB se obtuvo 7270 pixeles de color blanco representando el 1.52% del total, mientras que los pixeles de fondo (negro) son de 770585 representando el 98.48% del total.

Los valores para el Histograma HSV son para la imagen primigenia con filtro de color RGB se obtuvo 5444 pixeles de color blanco representando el 1.14 % del total, mientras que los pixeles de fondo (negro) son de 472411 representando el 98.86 % del total.

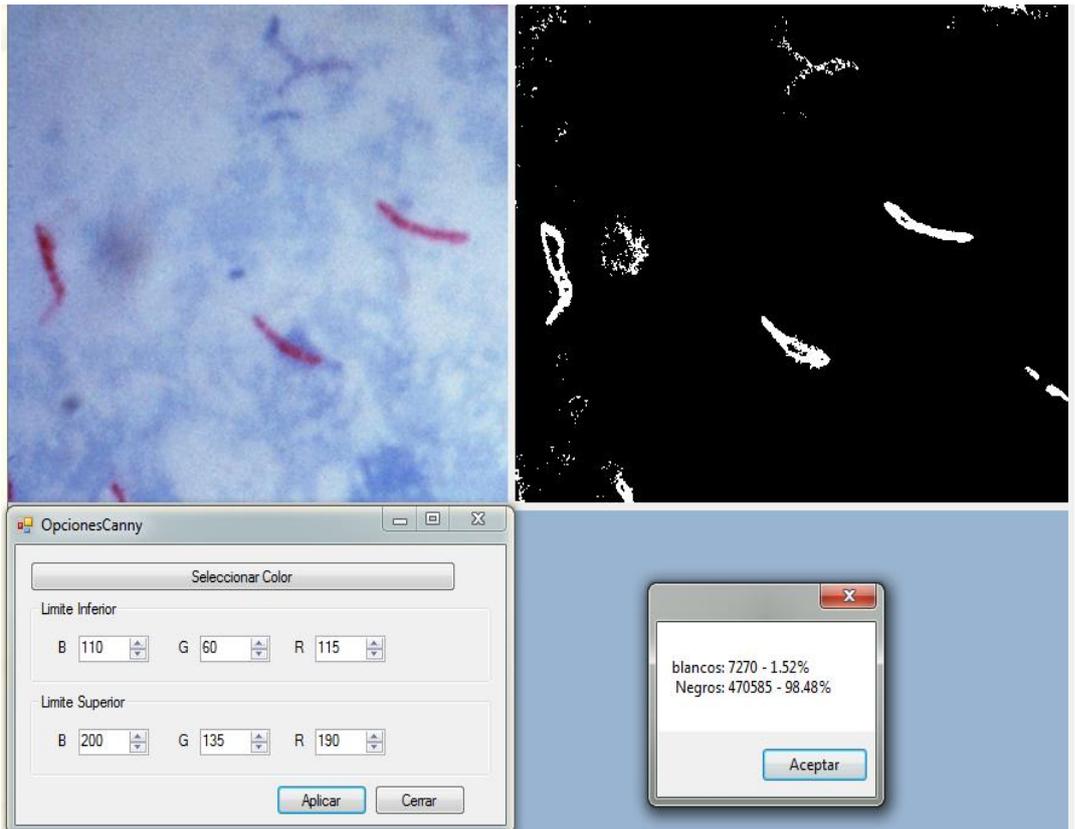


Ilustración 23: Histograma de la imagen con filtro RGB.

Fuente: elaboración propia.

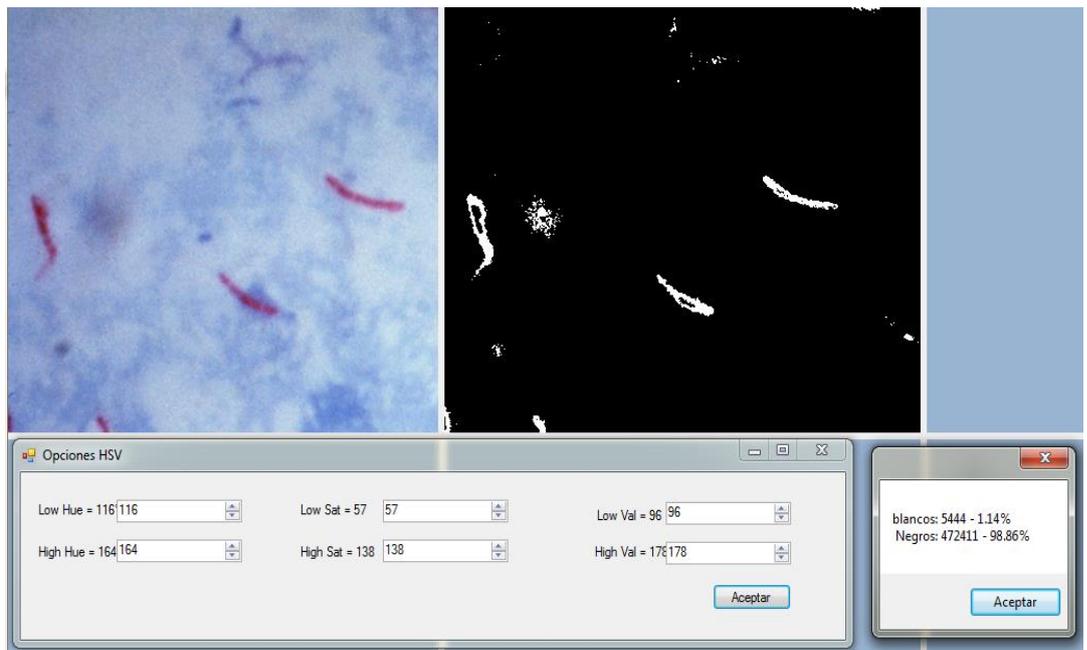


Ilustración 24: Histograma de la imagen con filtro HSV.

Fuente: elaboración propia.

De los valores de los histogramas, en donde cantidad de pixeles blancos para la misma imagen en modelo RGB representa el 1.52%, mientras que para el modelo HSV representa el 1.14%, podemos concluir que el método de color RGB nos genera una mejor área de trabajo, con más detalles para aplicar los métodos de borde y morfología, los cuales son imperceptible al ojo humano y no detectables por el filtro de color HSV.

3.4. FILTRO DE MORFOLOGIA.

La utilización del filtro de borde (Canny y Sobiel), en esta etapa (segunda), genera anomalías en la forma de los bacilos, incremento de bordes rotos, provocando irregularidades en la forma de los bacilos y pérdidas estadísticas o de conteo de estos bacilos en la muestra; Por lo tanto, la utilización de detectores de bordes como método utilizado en la etapa inmediata siguiente a la etapa de filtro de color fue descartada.

En este sentido se utiliza la operación morfológica (Dilatación), como módulo inmediato siguiente al filtro de color (RGB), para unir los bordes rotos, es así que los bacilos muy cercanos terminaban también uniéndose, generando cúmulos de bacilos y unión de bacilos con detalles del fondo negro generada por el filtro de color.

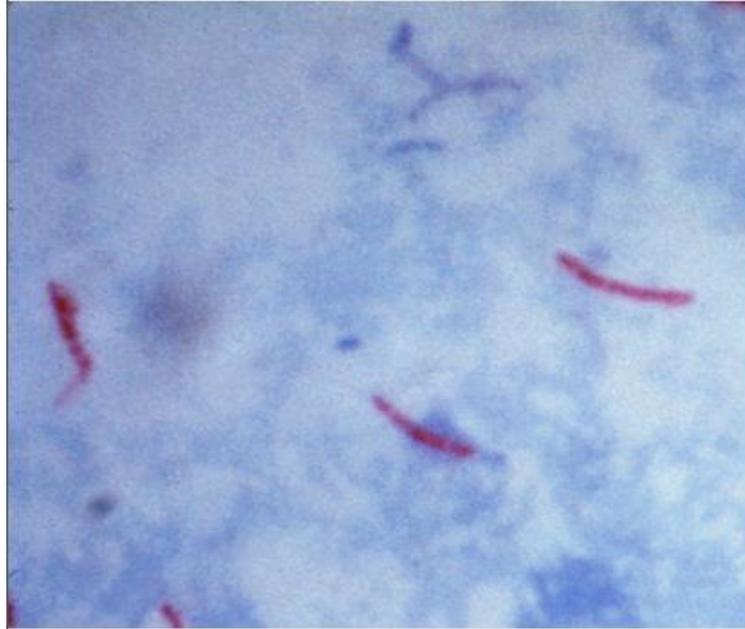


Ilustración 25: Muestra inicial sin aplicar filtro de color.

Fuente: elaboración propia

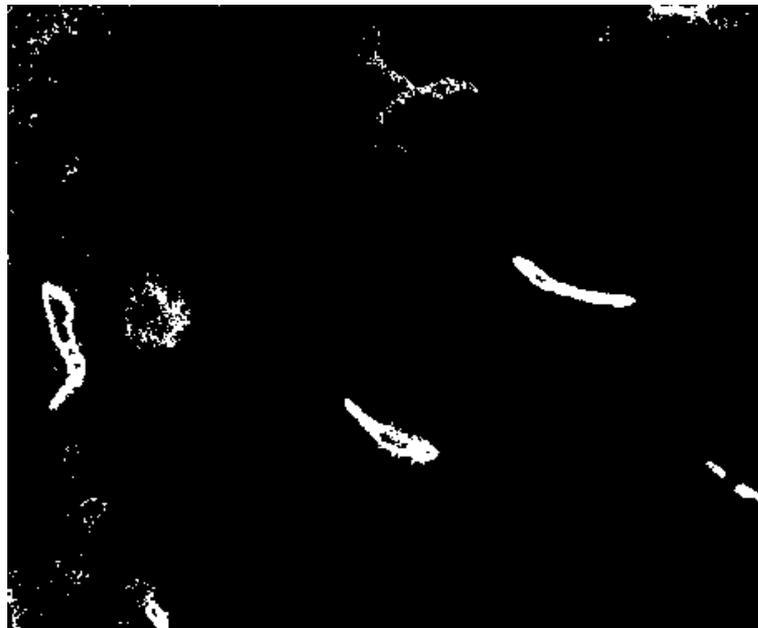


Ilustración 26: Bacilos segmentados por filtro de color RGB.

Fuente: elaboración propia.



Ilustración 27: Bacilos con aplicación de dilatación.

Fuente: elaboración propia.

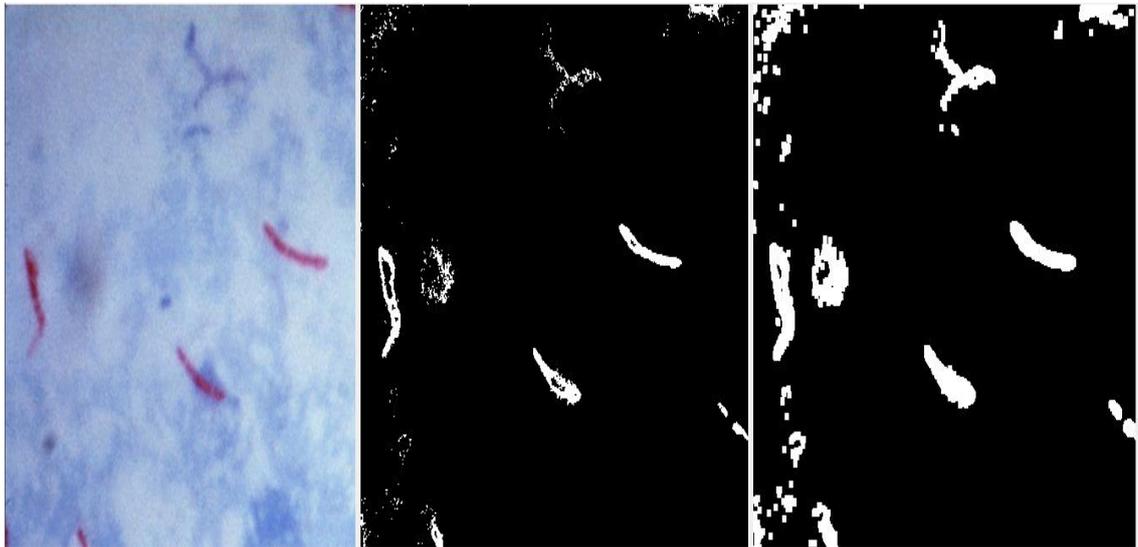


Ilustración 28: Bacilos con aplicación de dilatación.

Fuente: elaboración propia.

En esta última ilustración se puede apreciar la evolución de la imagen primigenia, se ve claramente en el centro de la ilustración el filtro de color y finalizando la dilatación, este grafico se detallará en los siguientes ítems.

3.4.1. DILATACION.

Inicialmente la propuesta de composición de módulos fue:

Módulo 1: Filtro de color.

Módulo 2: Filtro de bordes.

Módulo 3: Y filtro de morfología.

Pero detectado que la primera etapa (filtro de color RGB), segmenta o corta bacilos tal como se aprecia en la ilustración de filtro de color, se procede a proponer una metodología en donde el filtro de borde es el tercero y filtro de morfología es el segundo debido a que el filtro de morfología une partes del bacilo separado mientras que el filtro de borde define estos puntos separados de forma aislada, este hecho se puede apreciar en la siguiente figura:

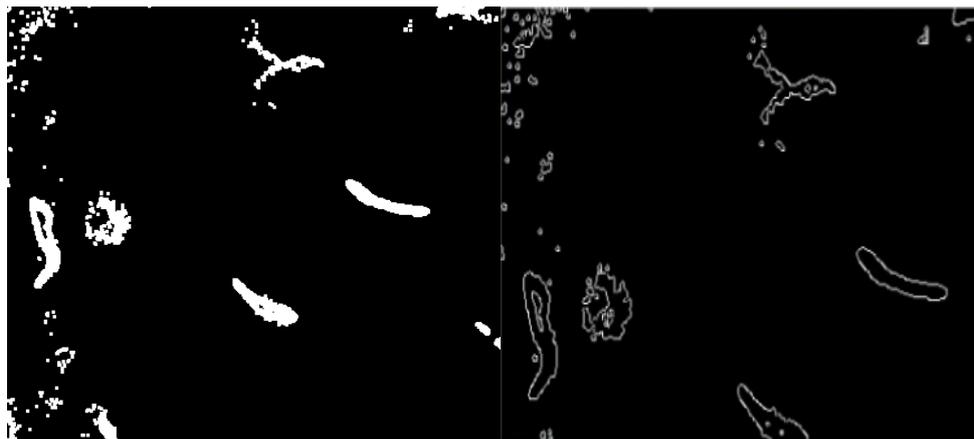


Ilustración 29: Muestra con filtro dilatación/borde.

Fuente: Elaboración propia.

En este punto se detalla el filtro de morfología con la premisa de unir bacilos segmentados y de no perder estos en el proceso de conteo. La secuencia de algoritmos para la detección de TBC es la siguiente:

Módulo 1: Filtro de color.

Módulo 2: Filtro de morfología.

Módulo 3: Y filtro de bordes.

En este sentido se procedió a procesar la imagen procedente del filtro de color, aplicando dilatación en la imagen filtrada por color, visualizando que los bacilos cortados se dilatan y por ende se une con su parte segmentada, generando que la pérdida en el conteo y detección de bacilos sea mínima o nula.

Por ejemplo, en la siguiente imagen se visualiza la Zona B en donde se observa un posible objeto de interés cortado por el proceso de filtrado de color, es así que aplicando dilatación en grado 1 este objeto tiende a juntarse.

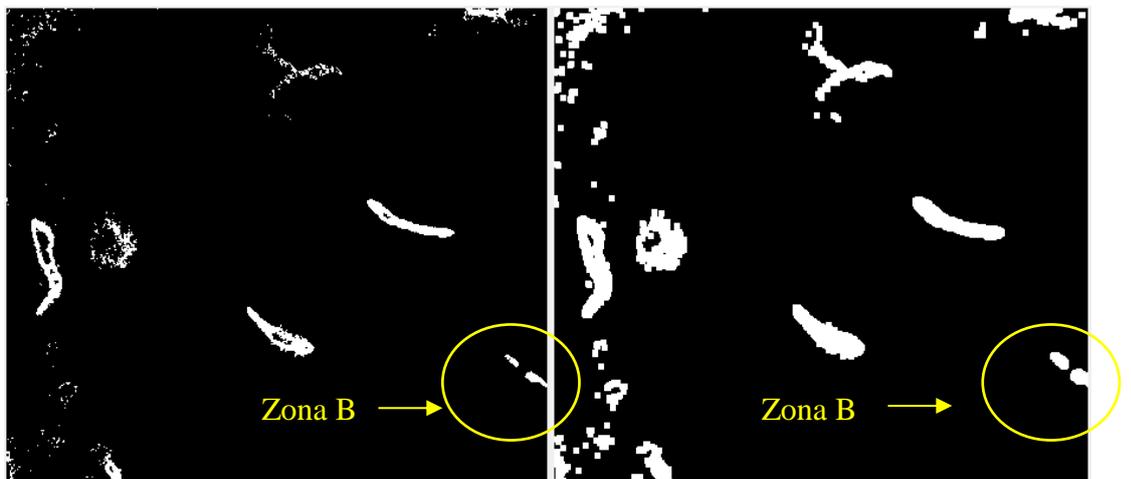


Ilustración 30: Muestra con dilatación grado 1.

Fuente: elaboración propia.

En el siguiente ejemplo podemos apreciar que aplicando dilatación en grado 3 este bacilo se junta con la parte segmentada.

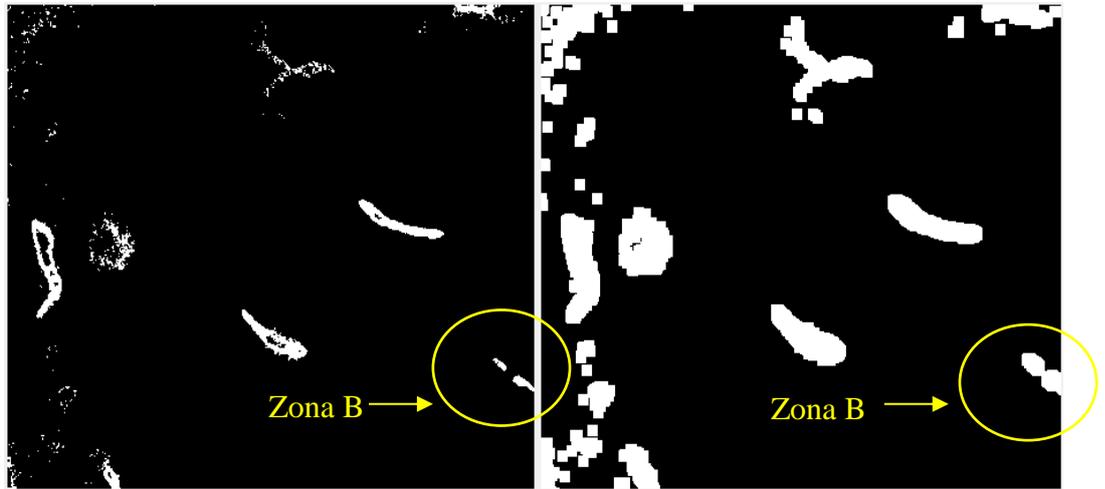


Ilustración 31: Muestra con dilatación grado 3.

Fuente: elaboración propia.

Además, la operación morfológica de dilatación, dilata los objetos (puntos), de la imagen uniéndolos. Al realizar la convolución de un píxel con el elemento estructurante, si se encuentra algún píxel con valor 1 en el área de vecindad del píxel de la imagen que coincide con el elemento estructurante, el píxel resultante será 1.

Así por ejemplo en la siguiente ilustración, para la Zona A, observamos el efecto de la dilatación respecto a la imagen original, en esta podemos observar como efectivamente las pequeñas discontinuidades o partes de los bacilos se unen, el ruido es mínimo en el espesor de todas las líneas.

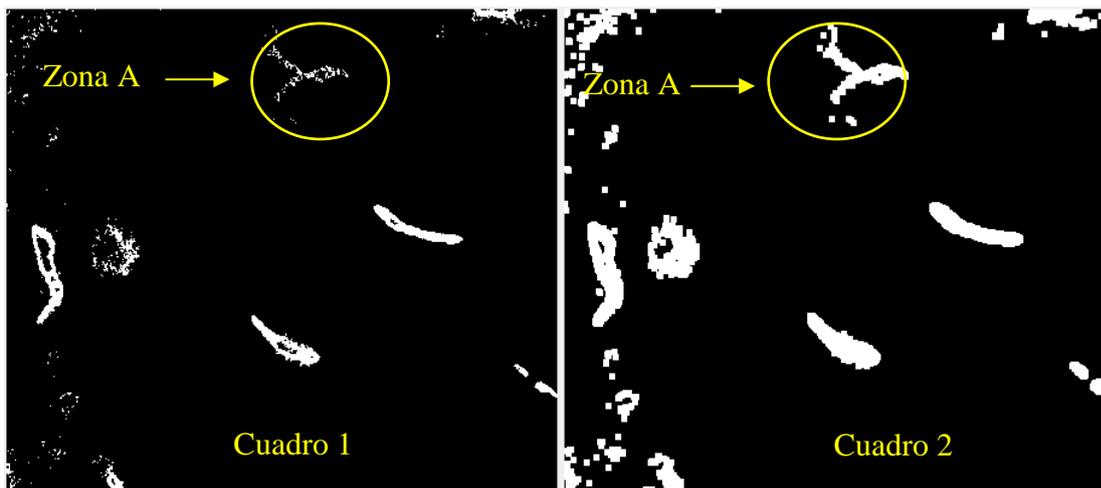


Ilustración 32: Muestra con dilatación y ruido minimizado.

Fuente: elaboración propia.

En esta imagen se puede apreciar la Zona A, en donde en el cuadro 1 el segmento en el círculo es de alguna manera visualizada, gracias al filtro RGB, en el cuadro 2, podemos observar que el rastro de puntos del cuadro 1, adquiere forma en el cuadro 2, debido al filtro de dilatación, pudiendo ser un posible objeto de interés.

Bajo este contexto podemos afirmar que la dilatación es una operación que:

1. Une bacilos u objetos de interés con sus partes, ya que el modulo anterior (filtro de color) los segmento.
2. Finalmente, esta operación dilata los puntos, dándole la forma del elemento estructurante.

Tabla 3: Algoritmo utilizado para dilatación.

```
private void dilatacionToolStripMenuItem_Click(object sender, EventArgs e)
{
    if (imageBox3.Image == null)
    { return; }
    else
    {
        Bitmap tmp = imageBox3.Image.Bitmap;
        img_input=new Image<Bgr,byte>(tmp);
        imageBox3.Image=img_input.Dilate(int.Parse(toolStripTextBox
        2.Text));
        Bitmap tmp2 = img_input.Bitmap;
        calcular_BN(tmp2);
    }
}

private void dilatacionBinariaToolStripMenuItem_Click(object sender,
EventArgs e)
{
    if (imageBox2.Image == null)
    { return;}
    else
    {
        Bitmap tmp = imageBox2.Image.Bitmap;
        img_input = new Image<Bgr, byte>(tmp);
        imageBox3.Image=img_input.Convert<Gray,byte>().ThresholdB
        inary(new Gray(120),new
        Gray(255)).Dilate(int.Parse(toolStripTextBox3.Text));
        Bitmap tmp2 = img_input.Bitmap;
        calcular_BN(tmp2);
    }
}
```

Fuente: elaboración propia

3.4.2. EROSIÓN.

Aplicada la erosión a la imagen procesada con filtro de color, obtenemos la imagen en donde se observa ruidos mínimos, estos son casi imperceptibles, pero las trazas de los bacilos son mucho más delgadas y muchos de ellos se rompen perdiendo su continuidad.

Es decir se obtiene una imagen discontinua como se aprecia en la siguiente ilustración, esta operación morfológica es un retroceso ya que se pretende obtener bacilos completos para la detección y el conteo de los mismos, esta “**Re Segmentación**” genera que la selección del proceso que seguirá al Módulo Uno (Filtro de Color) será la operación morfológica de “Dilatación”, ya que en vez de segmentar hace la operación contraria, los une, siendo la mejor opción para cumplir con los objetivos del presente proyecto.

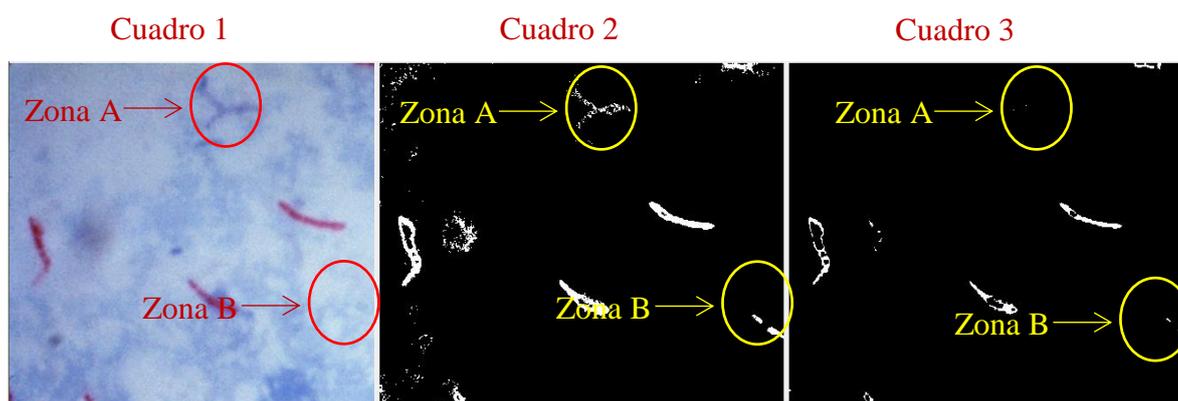


Ilustración 33: Muestra con erosión.

Fuente: elaboración propia.

Cabe mencionar que la anterior ilustración es la secuencia de procesamiento de imágenes, el cuadro 1 es la imagen primigenia, mientras que el cuadro 2 es imagen

procesada con filtro RGB y la operación de erosión se visualiza en el cuadro 3, en este sentido podemos indicar lo siguiente:

Zona A; se observa que en el cuadro 1, es de alguna manera perceptible, esta misma zona para el cuadro 2 es más intensa, ya que el modelo de color RGB vislumbra objetos de interés imperceptibles por el ojo humano e incluso por el modelo de color HSV.

Para el cuadro 3, el objeto de interés desaparece por la operación morfológica de erosión ya que este como ya se mencionó adelgaza la posible forma del objeto en estudio.

Zona B; en la anterior Zona (Zona A) no se necesita tanto esmero para detectar posibles objetos de interés, pero en la Zona B se observa que es absolutamente imperceptible un bacilo, este es visualizado en el cuadro 2 por el filtro de color, pero en el cuadro 3 se observa que el posible objeto de interés es segmentado.

De estas dos observaciones podemos indicar que la erosión como operación de forma o de morfología no es la adecuada para este tipo de procesamiento de imágenes de bacilo.

Tabla 4: *Algoritmo utilizado para Erosión.*

```
private void erosionToolStripMenuItem_Click(object sender, EventArgs e)
{
    if (imageBox3.Image == null)
    { return; }
    else {
        Bitmap tmp = imageBox3.Image.Bitmap;
        img_input = new Image<Bgr, byte>(tmp);
        imageBox3.Image=img_input.Erode(int.Parse(toolStrip
```

```

        TextBox1.Text));
        Bitmap tmp2 = img_input.Bitmap;
        calcular_BN(tmp2);
    }
}
private void erosionBinariaToolStripMenuItem_Click(object sender,
EventArgs e)
{
    if (imageBox2.Image == null)
    {
        return;
    }
    else
    {
        Bitmap tmp = imageBox2.Image.Bitmap;
        img_input = new Image<Bgr, byte>(tmp);
        imageBox3.Image=img_input.Convert<Gray,
byte>().ThresholdBinary(new Gray(120),
new Gray(255)).Erode(int.Parse(toolStripTextBox3.Text));
        tmp = imageBox3.Image.Bitmap;
        img_input = new Image<Bgr, byte>(tmp);
        imageBox3.Image=img_input.Resize(50,
Emgu.CV.CvEnum.INTER.CV_INTER_AREA);
        Bitmap tmp2 = img_input.Bitmap;
        calcular_BN(tmp2);
    }
}

```

Fuente: elaboración propia

3.5. DETECCIÓN DE BORDES.

Luego de haber elegido la operación morfológica “dilatación”, para unir bacilos segmentados se procede a la selección de las operaciones de detección de bordes con el fin de detectar las líneas de los bacilos.

Se realizaron tentativas con dos diferentes detectores de borde (Sobel y Canny), obteniendo visualmente un mejor resultado con el detector de borde de Canny.

En este punto se detalla el proceso de selección, comparación y argumentación del mejor algoritmo para la detección de bordes, cabe mencionar que este proceso es muy complejo ya que en una muestra pueden existir varios, pocos o ningún bacilo, además de existir imágenes que no necesariamente son bacilos, pudiendo ser puntos o cualquier otra figura, esto implicaría que para la detección y conteo de estos, es necesario la eliminación de toda aquella figura que sea más diferente y pequeña que un supuesto bacilo.

El método de selección del mejor algoritmo reside en visualizar y analizar dos imágenes procedentes de la imagen inicial convolucionada con los algoritmos de Canny y Sobel.

3.5.1. ALGORITMO DE SOBEL.

El algoritmo de Sobel calcula la gradiente de intensidad de brillo de cada punto (pixel), dando la dirección del mayor incremento posible (de negro a blanco). El algoritmo muestra que tan abruptamente o suavemente cambia una imagen en cada punto analizado, a su vez que tanto un punto determinado representa un borde en la imagen y también la orientación a la que tiende ese borde.



Ilustración 34: Muestra de bacilo con filtro morfológico.

Fuente: Elaboración propia.



Ilustración 35: Imagen con filtro de Sobel.

Fuente: Elaboración propia.



Ilustración 36: Imagen con filtro de Canny.

Fuente: Elaboración propia.

Viendo las imágenes podemos darnos cuenta que el algoritmo que detecto mayor cantidad de bordes es el de Canny, claro que lo hizo en mayor tiempo debido a que tiene mayor procesamiento, sin embargo tomando en cuenta los recientes resultados, el filtro de Canny reduce el ruido de la imagen original y desecha los bordes falsos; Además se observa que la imagen con filtro de borde Sobel no tiene resultados como la imagen convolucionada con Canny, esta conclusión es resultado de un análisis a simple vista, lo cual creemos que es válido pero no es absoluto, pues está atado a nuestra subjetividad, aun así no debemos olvidar que muchos resultados en el campo del procesamiento de imágenes se basa en el punto de vista del ser humano, tal como por ejemplo en la representación de los valores de la escala de grises para el modelo e color RGB para Open Cv, por lo tanto este análisis por observación es válido.

Finalmente se debe de indicar que en la ilustración donde está la imagen procesada con Sobel, se aprecia que los posibles objetos de interés (bacilos)

no se cierran y/o unen por lo tanto, hacer detección y por ende el conteo de los bacilos en **objetos no definidos** es imposible.

Tabla 5: *Algoritmo utilizado para Sobel.*

```
private void sobelToolStripMenuItem_Click(object sender, EventArgs e)
{
    if (img_input == null)
    { return;}
    Else {
        Bitmap tmp = imageBox2.Image.Bitmap;
        img_input = new Image<Bgr, byte>(tmp);
        Image<Gray, byte> Img_gray =
        img_input.Convert<Gray, byte>();
        Image<Gray, float> img_Sobel=newImage<Gray,
        float>(img_input.Width, img_input.Height, new Gray(0));
        img_Sobel = Img_gray.Sobel(1, 1, 3);
        imageBox6.Image = img_Sobel;
        Bitmap tmp2 = img_Sobel.Bitmap;
        calcular_BN(tmp2);
    }
}
```

Fuente: elaboración propia

3.5.2. ALGORITMO DE CANNY.

El algoritmo de Canny: combina un operador diferencial con un filtro gaussiano, el cual suaviza la imagen (reduce ruido, reduce detalles de textura que no interesan); a la imagen se le calcula la gradiente para determinar los pixeles donde se produce máxima variación, se suprime los pixeles que no son máximos locales en la dirección del gradiente y se realiza un doble

proceso de umbralización, tanto para determinar los píxeles de borde como para eliminar falsos bordes o bordes dobles.

El detector de Canny es considerado uno de los detectores de borde más poderosos porque utiliza también la información de la dirección de la gradiente, a comparación de los otros detectores que sólo utilizan la magnitud.

Este método emplea los siguientes pasos para realizar la detección (Gonzalez, Wood, & Eddins, Digital Image Processing Using MATLAB, 2004), (Canny, 1986):

1. La imagen es suavizada usando un filtro Gaussiano con una determinada desviación estándar, $\sigma = 90$, para reducir el ruido.
2. Se calcula la magnitud de la gradiente y la dirección del borde para cada píxel.
3. Se realiza el proceso conocido como la Supresión de no-máximos para obtener bordes más definidos y delgados. Para esto, se consideran cuatro direcciones identificadas por las orientaciones de 0° , 45° , 90° y 135° con respecto al eje horizontal y para cada píxel se encuentra la dirección que mejor se aproxime a la dirección de la gradiente. Si el valor de la magnitud de la gradiente es más pequeño que al menos uno de sus dos vecinos en la dirección del ángulo obtenido se asigna el valor 0 a dicho píxel, en caso contrario se asigna el valor de la magnitud de la gradiente.
4. Se utiliza el concepto de histéresis con dos valores umbrales (T1 y T2) determinados para definir el borde. Si el valor de la magnitud de

la gradiente es mayor a T2 es considerado un píxel de borde fuerte, si se encuentra entre los valores de T1 y T2 es considerado un píxel de borde débil, y si es menor a T1 no es detectado como borde.

5. Finalmente, se analiza la vecindad de los píxeles de borde débil para realizar la conexión con los píxeles de borde fuerte.

Se debe indicar que al análisis por visualización está el hecho de que autores como (Gonzalez, Wood, & Eddins, Digital Image Processing Using MATLAB, 2004) (Canny, 1986), indican que Canny es el mejor algoritmo de filtrado de bordes, no obstante, se define en el siguiente ítem (3.5.3) un análisis de histogramas para afianzar del hecho ya mencionado.

Finalmente señalar que en la ilustración con Canny se visualiza objetos con contornos cerrados, lo cual genera espacio de objetos bien definidos, siendo posible la detección y conteo de bacilos.

Tabla 6: *Algoritmo utilizado para Canny.*

```
public void AplicarCanny(double LimiteS=50.0, double LimiteI=20.0)
{
    if (img_input == null)
    { return;}
    else
    {
        Image<Gray, byte> img_Canny = new Image<Gray, byte>
        (img_input.Width, img_input.Height, new Gray(0));
        if (checkBox1.Checked) {
            Bitmap tmp = imageBox3.Image.Bitmap;
            img_input = new Image<Bgr, byte>(tmp); }
        img_Canny = img_input.Canny(LimiteS,LimiteI);
        imageBox6.Image = img_Canny;
```

```

Bitmap tmp2 = img_Canny.Bitmap;
calcular_BN(tmp2);
double contador = 0;
List<Triangle2DF> triangleList = new List<Triangle2DF>();
using (MemStorage storage = new MemStorage())
for (Contour<Point> contours = img_Canny.FindContours();
contours != null; contours = contours.HNext)
{
    Contour<Point>currentContour=contours.ApproxPoly
    (contours.Perimeter*0.1, storage);
if (contours.Perimeter < 150) {
    img_Canny.Draw(contours, new Gray(0), 1);
} else {
    Point[] pts = currentContour.ToArray();
if (pts.Length > 1) {
    if (pts.Length == 2) {
        if (distancia(pts[0], pts[1]) > 70) {
            foreach (Point pt in pts) {
                img_Canny.Draw(new CircleF(pt, 5),
                new Gray(200), 1); }
            contador++; }
        }
    if (pts.Length == 3) {
        if (distancia(pts[0], pts[1]) > 70
        || distancia(pts[0], pts[2]) > 70
        || distancia(pts[2], pts[1]) > 70) {
            foreach (Point pt in pts) {
                img_Canny.Draw(new CircleF(pt, 5),
                new Gray(200), 1);
            }
            contador+= 0.5; }
        }
    }
}

```

```
        }  
    }  
}  
    MessageBox.Show("ELEMENTOS-DETECTADOS:  
"+contador.ToString());  
    imageBox5.Image = img_Canny;  
}  
}
```

Fuente: elaboración propia

3.5.3. HISTOGRAMAS DE FILTRO DE BORDE.

La detección de bordes se realiza con el fin de reconocer objetos o regiones, por borde podemos definirla como zonas de una imagen en donde se advierte un cambio notable en la intensidad de dicha zona (negro a blanco o blanco a negro).

Con la finalidad de reforzar el hecho de que Canny presenta mejores características de determinación de borde, y esto sustentado por el análisis por vista de imágenes en ítem anteriores y además, que autores indican lo mismo, realizaremos un análisis de histogramas en donde reforzaremos lo afirmado.

En este sentido hallaremos el histograma para una imagen con sus distintos filtros de borde, Sobel y Canny, pero se requiere saber cuál de estos presenta objetos de interés con más detalles.

Bajo esta premisa eliminaremos objetos de no interés tales como puntos, círculos, o cualquier otro objeto que no sea de interés.

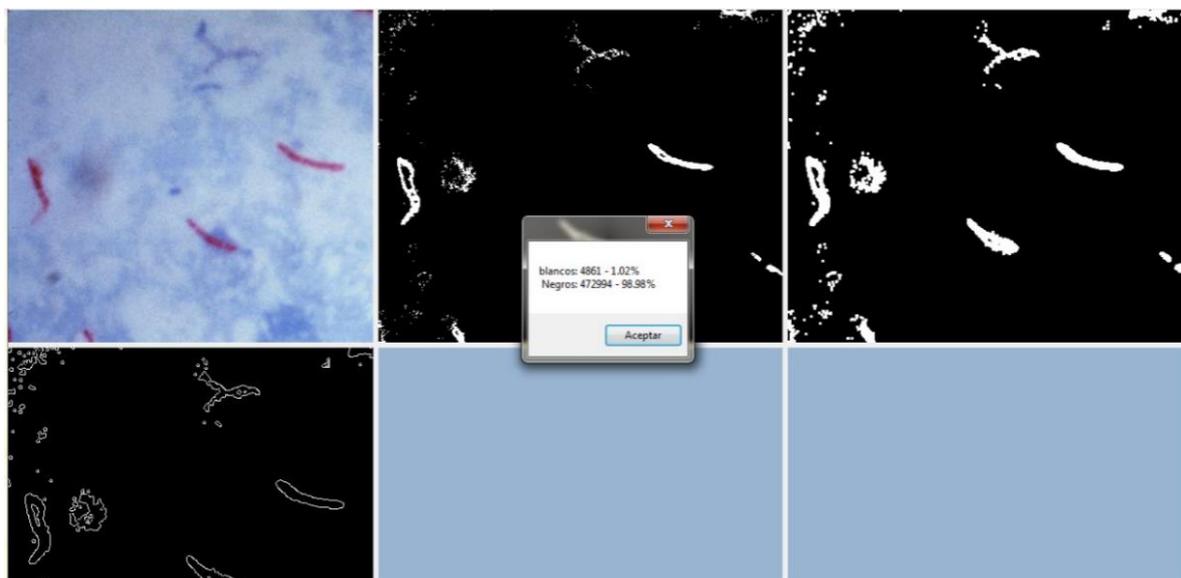


Ilustración 37: Histograma de la Muestra de bacilo con filtro Canny.

Fuente: Elaboración propia.

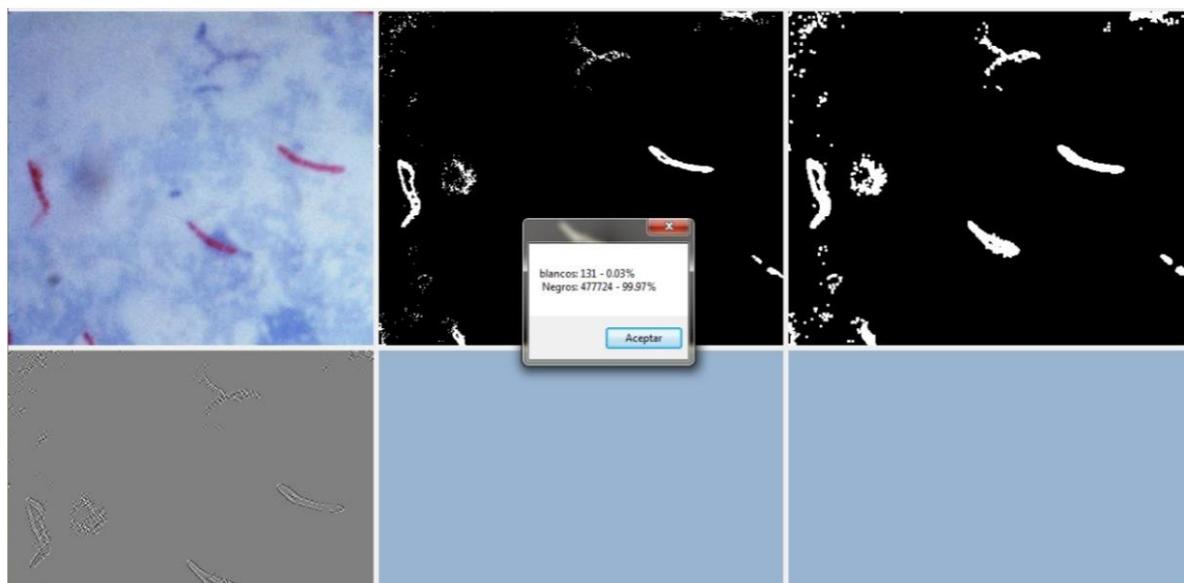


Ilustración 38: Histograma de la Muestra de bacilo con filtro Sobel.

Fuente: Elaboración propia.

En las dos ilustraciones anteriores se puede apreciar para una misma imagen su histograma respectivo para cada una de los filtros de borde analizados (Canny y Sobel), estos valores son los siguientes:

Los valores para el Histograma Canny son para la imagen primigenia con filtro de borde se obtuvo 4866 pixeles de color blanco representando el 1.02% del total, mientras que los pixeles de fondo (negro) son de 472994 representando el 98.88 % del total.

Los valores para el Histograma Sobel son para la imagen primigenia con filtro de borde se obtuvo 131 pixeles de color blanco representando el 0.03% del total, mientras que los pixeles de fondo (negro) son de 477724 representando el 99.97% del total.

De los valores de los histogramas en donde cantidad de pixeles blancos para la misma imagen en modelo Canny representa el 1.02%, mientras que para el algoritmo de Sobel representa el 0.03%, podemos concluir que el algoritmo de Canny nos genera objetos de interés con más detalles, para aplicar un algoritmo de detección y conteo de bacilos.

3.6. ALGORITMO DE DETECCIÓN Y CONTEO.

Para la implementación del algoritmo de detección y conteo de bacilos de Koch se procedió de la siguiente manera:

1. Calculo de tamaño del perímetro de los objetos de interés.
2. Calculo de diámetro de objetos de interés.

En este punto se explicará el procesamiento de detección de bacilos y/o posibles objetos de interés, en este contexto se debe indicar que el algoritmo de Canny tiene herramientas que permite conocer características de cada uno de los objetos presentes en el área de trabajo, Canny almacena en un arreglo figuras u objetos de

interés y dentro de estos almacena sus puntos, este arreglo tiene varias operaciones, de las cuales nos interesa dos:

Una que estima el perímetro del objeto y la otra que estima la distancia entre dos puntos dentro del objeto, el interés de estas operaciones se debe a que el algoritmo usa estas operaciones para detectar bacilos.

3.6.1. PERÍMETRO DE OBJETOS DE INTERÉS.

Para estimar el tamaño de los objetos de interés se aplica una variante del algoritmo de Canny, el cual se denomina filtrado por perímetro.

El principal problema de esta etapa es que existen figuras de no interés que tienen un perímetro y que las tomarían como parte de la solución, es así que la lógica de solución estaría en eliminar objetos de no interés para que el valor de los falsos positivos sea mínimo o en mejor de los casos sea nulo.

El filtrado de perímetro nos da un valor de que tan grande es un objeto ubicado dentro de la zona de trabajo, realizando pruebas se llegó a estimar que todos los objetos menores de 150 píxeles son considerados como objetos de no interés, los mayores a este valor son contabilizados como potenciales objetos de interés, es así que entra a tallar otra condición para afirmar que el “potencial objeto de interés” sea un “objeto de interés” (bacilo), esta condición estaría atada a la pregunta; ¿tiene la forma de un vacilo?, en el punto 3.6.2 se explica el proceso de estimar la forma de un potencial objeto de interés.

3.6.2. ESTIMAR FORMA DE OBJETOS DE INTERÉS.

El problema presentado en afirmar que “son bacilos todos los objetos que tengan un perímetro mayor a 150 píxeles”, es que todos estos objetos no tienen la forma precisamente de un bacilo.

Estimar la forma de un bacilo, consiste en hallar el diámetro o distancia de dos puntos extremos del objeto, y esto se logra hallando la tangente de cada punto de un objeto con perímetro mayor a 150 píxeles, si la tangente en un punto es cero querrá decir que es un punto que tiene una dirección u orientación diferente a los demás puntos del objeto, caso contrario la dirección es la misma, entonces ubicado los puntos donde la tangente es cero se estima la distancia o diámetro de estos.

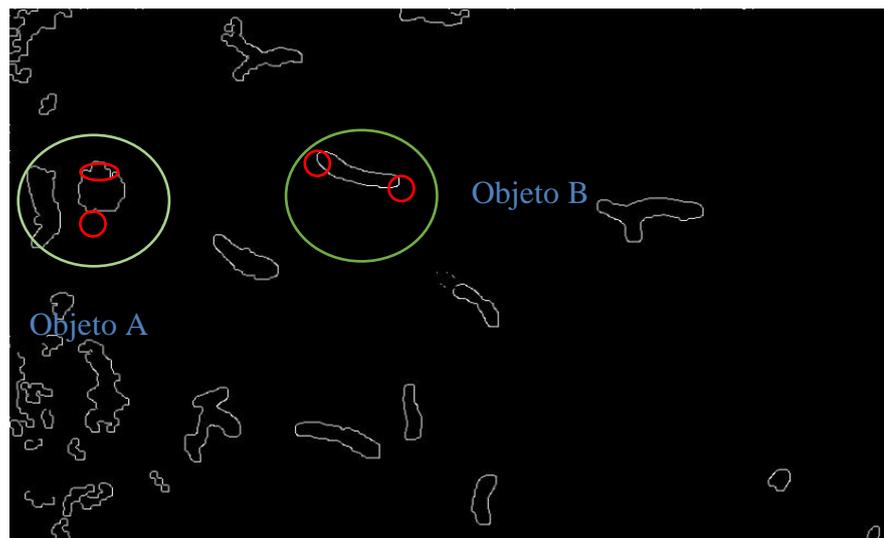


Ilustración 39: Muestra con filtrado de diámetro.

Fuente: Elaboración propia.

En la figura se observa dos objetos con un perímetro mayor a 150 píxeles, por lo cual se podría afirmar que los dos son objetos de interés, pero se aprecia que solo el objeto B, es un bacilo, mientras que el objeto A no tiene

forma de bacilo ya que tiene forma de un círculo, entonces es necesario indicar que para determinar un objeto de interés como bacilo deberá cumplir dos condiciones, la primera es que tenga un perímetro de 150 píxeles y la segunda es que tenga un diámetro mayor a objetos que tengan perímetro mayor a 150 píxeles.

En resumen, la secuencia de procesamiento de imágenes de muestras de TBC, inicia con el filtro de color RGB, en seguida se procede a aplicar el filtro de morfología (operación de dilatación), luego el detector de bordes de Canny, para obtener imagen binaria de bacilos con bordes que generen objetos definidos, finalmente es procesada bajo dos condiciones para el conteo de objetos de interés (bacilos).

Además se debe indicar que la imagen procesada por Canny, tiene el resultado de eliminar los bacilos que se encuentren particionados por los bordes de la imagen, ya que aunque el objeto parezca un bacilo o sea uno no son registrados como tal, pues puede llevar a errores.

Finalmente se etiquetan los objetos de interés estimando el diámetro o la distancia de los puntos más extremos de los objetos presentes en la zona de trabajo para clasificarlos como bacilos u objetos de interés.

En la siguiente imagen se muestra los módulos de procesamiento de imagen de una muestra procesada con la técnica de tinción de Ziehl-Neelsen, hasta la detección y conteo de los bacilos.

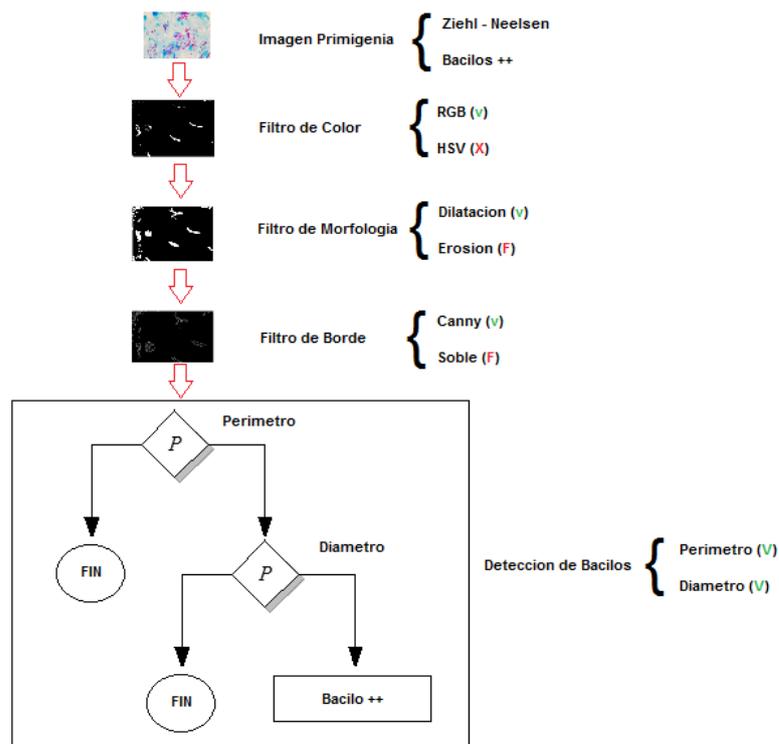


Ilustración 40: Grafica de solución planteada.

Fuente: elaboración propia.

En la **Ilustración 40:** Grafica de solución planteada. Ilustración 40, se aprecia cuatro procesos para identificar, contar y realizar un diagnóstico de la tuberculosis, en el primer proceso la imagen primigenia del campo es procesada con los filtros de color (RGB y HSV), donde se determinó que el filtro RGB ofrece mejores condiciones de espacio de trabajo, en el segundo proceso se aplica a la imagen proveniente del proceso de color, el filtro morfológico (dilatación y erosión), en donde se selecciona el filtro de dilatación ya que establece imágenes u objetos de interés con formas definidas mientras que el filtro erosión hace no perceptible objetos de interés, el tercer proceso es la aplicación de borde donde se selecciona el filtro de Canny ya que define los bordes de los objetos de interés de un modo adecuado, además que ofrece métodos para estimar el perímetro y diámetro de los objetos de interés para en base a esto identificar, contar y diagnosticar la tuberculosis.

CAPÍTULO IV

VALIDACION DE RESULTADOS.

4.1. POBLACIÓN Y MUESTRA.

4.1.1. POBLACIÓN.

La población considerada para este estudio está conformada por las muestras de esputo con diagnósticos de tuberculosis (+, ++, +++, negativa y pausibacilares) que son enviados a control de calidad desde los centros de salud (Red Norte, Red Sur, Red de Chumbivilcas, Red de Canas – Espinar - Canchis, red de La Convención, red de Kimbiri y los Hospitales Antonio Lorena y Regional en el ciudad de Cusco) hacia el laboratorio referencial de DIRESA durante el mes de agosto del 2019.

La cantidad de láminas ingresadas para control de calidad a las instalaciones del Laboratorio Referencial de DIRESA es de 300 a 350 láminas mensuales.

4.1.2. TAMAÑO DE MUESTRA.

La muestra estará conformada por 92 láminas del laboratorio referencial de DIRESA, este tamaño de muestra es obtenido al aplicar la fórmula estadística de proporciones para un “N” finito o conocido.

$$M = \frac{Z^2 * P * Q * N}{e^2 * (N - 1) + Z^2 * P * Q}$$

Dónde:

N = Población total (muestra de láminas de esputo mensual).

Z = Nivel de confianza del 75% (1.15).

P= Probabilidad favorable del 50%.

Q= Probabilidad desfavorable del 50%.

e= Precisión (Error máximo admisible en términos de proporción)

Los valores de P y Q se han considerado 0.05 y 0.95 respectivamente el valor desfavorable más usado, debido a que no se han hecho, este tipo de investigación en este lugar, mientras que “e” tiene un valor de 0.05.

4.1.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

1. Láminas procesadas no mayor a 10 días de antigüedad (por la calidad de la fijación).
2. Láminas con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia positiva +, baciloscopia positiva ++, baciloscopia positiva +++, baciloscopia negativa y paucibacilares.

4.1.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

1. Láminas deterioradas
2. Láminas sin resultado definido (indeterminados)



Ilustración 41: Láminas de muestras de esputo.

Fuente: Foto obtenida de Laboratorio Referencial de DIRESA

4.2. MATERIALES.

Las imágenes fueron adquiridas de muestras de esputo de pacientes del Laboratorio Referencial de Salud Pública de la DIRESA Cusco, ya que es el laboratorio donde se concentra la mayor cantidad de muestras de esputo de pacientes con tuberculosis en la Región Cusco, además cuenta con un laboratorio de micobacterias donde se analizan las muestras procedentes de toda la región.

El técnico encargado del laboratorio de control de calidad de DIRESA, nos facilitó muestras de esputo teñidas con la técnica de tinción de Ziehl-Neelsen.

Para la obtención de las imágenes digitales de las muestras se utilizó un microscopio LEICA ICC50 HD, el cual se encuentra instalado en el laboratorio referencial, dentro de sus características más resaltantes es que cuenta con una cámara digital acoplada a una lente de 100X por el cual se visualiza directamente los campos de la muestra.

Además, esta cámara captura imágenes con una resolución de 2048 x 1536 y las almacenadas en formato de archivo “.JPG”, conjuntamente a este microscopio se debe contar con elementos de bio seguridad tales como tapa boca, guantes y aceite de sumersión de alto índice de refracción para aumentar la resolución del microscopio.



Ilustración 42: Microscopio LEICA ICC50 HD.

Fuente: Foto obtenida de Laboratorio Referencial de DIRESA.

4.3. VARIABLES.

Tabla 7: *Definición de variables.*

Variable independiente	Variable dependiente	Indicadores
Filtro de color (definición de espacio de trabajo).	Diagnóstico de la TBC	Tiempo de lectura
Filtro de forma (definir estructura de bacilo).		Especificidad
Filtro de borde (definir línea y contorno de bacilos).		Sensibilidad
		Valor predictivo positivo
		Valor predictivo negativo

Fuente: elaboración propia.

Tabla 8: Definición de dimensiones e indicadores de variable.

Variable	Dimensiones	Indicadores.	Sub Indicadores	Sub Indicadores
Diagnóstico de TBC.	+	Se observa entre 10 y 99 BAAR en 100 campos observados.	Calidad de muestra	Tiempo de identificación y conteo
	++	Se observan de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados		
	+++	Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados		
	-	Se observa 0 BAAR en 100 campos observados.		
	Paucibacilar	Se observa entre 1 y 9 BAAR en 100 campos observados.		

Fuente: elaboración propia.

4.4. RECOLECCIÓN DE DATOS.

El método de recolección de datos será mediante entrevista de investigación no estructurada y observación estructurada ya que se utilizara un medio para la recolectar información como ya se mencionó un microscopio LEICA ICC50 HD.

El proceso de recolección de datos implica tomar fotografías con el LEICA a los campos correctamente enfocados y visualizados, la cantidad de imágenes tomadas estarán sujetas a la cantidad de muestras (92 láminas) y el tipo de lectura de las láminas, de tal manera que se tiene lo siguiente:

Tabla 9: *Ejemplo de cantidad de imágenes.*

Lecturas Requeridas	# de láminas Requeridas	# imágenes Requeridas	Detalle
Positivo +	20	2000	Se requiere 100 imágenes o campos por cada lamina
Positivo ++	20	1000	Se requiere 50 imágenes o campos por cada lamina
Positivo +++	32	640	Se requiere 20 imágenes o campos por cada lamina
Negativas	10	1000	Se requiere 100 imágenes o campos por cada lamina
Paucibacilares	10	1000	Se requiere 100 imágenes o campos por cada lamina
Total	92	5640	

Fuente: elaboración propia.

Es fundamental indicar que para esta investigación, cada campo observado por el especialista a través del microscopio es equivalente a una imagen tomada por el microscopio Leica y que la cantidad de imágenes o campos establecido en la

Tabla 9 es debido a que la OMS (2008) en el Manual para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis indica que:

1. Positivo +: se observan menos de un bacilo por campo en promedio en 100 campos observados.
2. Positivo ++: se observan de 1 a 10 bacilos por campo en promedio en 50 campos observados.
3. Positivo +++: Se observan más de 10 bacilos por campo en promedio en 20 campos observados.
4. Negativo: no se observan BAAR en 100 campos observados.
5. Paucibacilares: no se observan BAAR en 100 campos observados.

4.5. CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE DIAGNÓSTICO.

La validación de la herramienta tecnológica implementada en el presente proyecto se realizó bajo la supervisión y evaluación del Doctor en Ciencias Biológicas Erick Yabar Landa (especialista) profesor principal de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, quien utilizó una tabla de 2X2 en la cual se visualiza el hecho de dada la existencia de un hallazgo “Y” o un Test, que tan probable es la existencia de una condición “X” o una lámina de un paciente con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia positiva +, baciloscopia positiva ++, baciloscopia positiva +++, baciloscopia negativa y paucibacilares.

Tabla 10: *Tabla 2X2 para validación de prueba.*

	C +	C o	Total
T+	VP	FP	Total T+
T-	FN	VN	Total T-
	Total C+	Total Co	n

Fuente: elaboración propia.

Dónde:

C + = Laminas con una condición dada, para esta investigación la condición es una lámina de un paciente con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia positiva + ó baciloscopia positiva ++ ó baciloscopia positiva +++ ó baciloscopia negativa ó paucibacilares.

C o = Laminas con sin la condición dada, de manera similar esta condición es una lámina de un paciente sin diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia positiva + ó baciloscopia positiva ++ ó baciloscopia positiva +++ ó baciloscopia negativa ó paucibacilares.

T + = Variable independiente denominado Test Positivo que para la presente investigación se define como un diagnostico (diagnostico implementado en el presente trabajo) positivo para” +” ó “++” ó “+++” ó “- “o paucibacilar.

T - = Variable independiente denominado Test Negativo que para la presente investigación se define como un diagnostico (diagnostico implementado en el presente trabajo) Negativo para” +” ó “++” ó “+++” ó “- “o paucibacilar.

VP = Celda bajo el estado en que la lámina del paciente presente la condición (+, ++, +++, -, paucibacilar) cuando el test sea positivo.

VN = Celda bajo el estado en que la lámina del paciente no presente la condición (+, ++, +++, -, paucibacilar) cuando el test sea negativo.

FP = Celda bajo el estado en la que el test es positivo pero la lámina no presenta condición (+, ++, +++, -, paucibacilar).

FN = Celda bajo el estado en la que el test es negativo pero la lámina presenta condición (+, ++, +++, -, paucibacilar).

Total C+ = Total de láminas de pacientes que tienen la condición.

Total Co = Total de láminas de pacientes que no tienen la condición.

Total T+ = Total de láminas de pacientes con test positivo.

Total T- = Total de láminas de pacientes con test negativo.

n = tamaño de muestra.

Además, en base a la Tabla 10 se determina los valores de confiabilidad y exactitud para el test o método de diagnóstico basado en procesamiento de imágenes implementado para el presente trabajo y este en base al método Gold Estándar:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP+FN} \dots \dots \dots \text{Ecuación 1}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN+FP} \dots \dots \dots \text{Ecuación 2}$$

$$\text{Exactitud} = \frac{VP+VN}{VP+VN+FN+FP} \dots\dots\dots \text{Ecuación 3}$$

Dónde:

VP: Verdadero positivo.

VN: Verdadero negativo.

FN: Falso negativo.

FP: Falso positivo.

4.5.1. CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN +.

En este punto se detalla la sensibilidad, especificidad y exactitud del método de diagnóstico basado en el procesamiento de imágenes planteado en el presente trabajo, estos parámetros dentro del contexto en el que la condición (C +) son láminas de un paciente con diagnóstico de tuberculosis con solo baciloscopia positiva +, mientras que (C o) se define como laminas con diagnóstico de baciloscopia positiva ++, +++, - y paucibacilares.

Tabla 11: *Tabla 2X2 para validación de condición +.*

	C +	C o	Total
T+	18	1	19
T-	2	71	73
	20	72	92

Fuente: elaboración propia.

Aplicando Ecuación 1, tenemos:

Sensibilidad = 90 %

Aplicando Ecuación 2, tenemos:

Especificidad = 98 %

Aplicando Ecuación 3, tenemos:

Exactitud = 96.73 %

Interpretación:

En la Tabla 11 en la segunda columna para la cuarta celda se aprecia 20 láminas con tuberculosis positiva + o (C+), de los cuales el método implementado en la presente tesis catalogo acertadamente a 18 láminas para esta condición mientras que 2 fueron catalogadas erróneamente para otras condiciones (Co) siendo estas 2 láminas con tuberculosis positiva + o (C+).

En la Tabla 11 en la tercera columna para la cuarta celda se aprecia 72 láminas con condición de (Co), de los cuales el método implementado en la presente tesis catalogo acertadamente a 71 láminas para esta condición mientras que 1 lamina fue catalogada erróneamente para la condición (C+) siendo esta lámina de la condición (Co).

En la Tabla 11 en la cuarta columna para la cuarta celda se aprecia 92 láminas que son el tamaño de la muestra con un nivel de confianza del 75%, de las cuales 19 láminas fueron diagnosticadas por el algoritmo bajo la condición de (C+) mientras que 73 láminas fueron diagnosticadas negativamente para esta condición.

Finalmente, existe una probabilidad del 90 % de clasificar una lámina de un paciente con diagnóstico positivo de tuberculosis con baciloscopia + cuando en realidad es positiva. Mientras que existe

una probabilidad del 98 % de clasificar una lámina con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia con condición (Co) como negativo cuando en realidad es negativo, además el instrumento implementado en la presente tesis para el diagnóstico de láminas de pacientes con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia + tiene un 96 % de exactitud.

4.5.2. CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN ++.

En este punto se detalla la sensibilidad, especificidad y exactitud del método de diagnóstico basado en el procesamiento de imágenes planteado en el presente trabajo, estos parámetros dentro del contexto en el que la condición (C++) son láminas de un paciente con diagnóstico de tuberculosis con solo baciloscopia positiva ++, mientras que (Co) se define como laminas con diagnóstico de baciloscopia positiva +, +++, - y paucibacilares.

Tabla 12: *Tabla 2X2 para validación de condición ++.*

	C ++	C o	Total
T+	19	2	21
T-	1	70	71
	20	72	92

Fuente: elaboración propia.

Aplicando Ecuación 1, tenemos:

Sensibilidad = 95 %

Aplicando Ecuación 2, tenemos:

Especificidad = 97.2 %

Aplicando Ecuación 3, tenemos:

Exactitud = 96.7 %

Interpretación:

En la

Tabla **12** en la segunda columna para la cuarta celda se aprecia 20 láminas con tuberculosis positiva ++ o (C++), de los cuales el método implementado en la presente tesis catalogo acertadamente a 19 láminas para esta condición mientras que 1 fue catalogada erróneamente para otras condiciones (Co) siendo esta lámina con tuberculosis positiva ++ o (C++).

En la Tabla 112 en la tercera columna para la cuarta celda se aprecia 72 láminas con condición de (Co), de los cuales el método implementado en la presente tesis catalogo acertadamente a 70 láminas para esta condición mientras que 2 láminas fueron catalogadas erróneamente para la condición (C++) siendo esta lámina de la condición (Co).

En la

Tabla **12** en la cuarta columna para la cuarta celda se aprecia 92 láminas que son el tamaño de la muestra con un nivel de confianza

del 75%, de las cuales 21 láminas fueron diagnosticadas por el algoritmo bajo la condición de (C++) mientras que 71 láminas fueron diagnosticadas negativamente para esta condición.

Finalmente, existe una probabilidad del 95 % de clasificar una lámina de un paciente con diagnóstico positivo de tuberculosis con baciloscopia ++ cuando en realidad es positiva, mientras que existe una probabilidad del 97.2 % de clasificar una lámina con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia con condición (Co) como negativo cuando en realidad es negativo, además el instrumento implementado en la presente tesis para el diagnóstico de láminas de pacientes con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia ++ tiene un 96.7 % de exactitud.

4.5.3. CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN +++.

En este punto se detalla la sensibilidad, especificidad y exactitud del método de diagnóstico basado en el procesamiento de imágenes planteado en el presente trabajo, estos parámetros dentro del contexto en el que la condición (C+++) son láminas de un paciente con diagnóstico de tuberculosis con solo baciloscopia positiva +++, mientras que (Co) se define como laminas con diagnóstico de baciloscopia positiva +, ++, - y paucibacilares.

Tabla 13: *Tabla 2X2 para validación de condición +++.*

	C +++	C o	Total
T+	31	1	32
T-	1	59	60
	32	60	92

Fuente: elaboración propia.

Aplicando Ecuación 1, tenemos:

Sensibilidad = 96.8 %

Aplicando Ecuación 2, tenemos:

Especificidad = 98.3 %

Aplicando Ecuación 3, tenemos:

Exactitud = 97.8 %

Interpretación:

En la Tabla 13 en la segunda columna para la cuarta celda se aprecia 32 láminas con tuberculosis positiva +++ o (C+++), de los cuales el método implementado en la presente tesis catalogo acertadamente a 31 láminas para esta condición mientras que 1 fue catalogada erróneamente para otras condiciones (Co) siendo esta lámina con tuberculosis positiva +++ o (C+++).

En la Tabla 113 en la tercera columna para la cuarta celda se aprecia 60 láminas con condición de (Co), de los cuales el método implementado en la presente tesis catalogo acertadamente a 59 láminas para esta condición mientras que 1 lámina fue catalogada erróneamente para la condición (C+++) siendo esta lámina de la

condición (Co).

En la

Tabla 123 en la cuarta columna para la cuarta celda se aprecia 92 láminas que son el tamaño de la muestra con un nivel de confianza del 75%, de las cuales 32 láminas fueron diagnosticadas por el algoritmo bajo la condición de (C+++), mientras que 60 láminas fueron diagnosticadas negativamente para esta condición.

Finalmente, existe una probabilidad del 96.8 % de clasificar una lámina de un paciente con diagnóstico positivo de tuberculosis con baciloscopia +++ cuando en realidad es positiva. Mientras que existe una probabilidad del 98.3 % de clasificar una lámina con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia con condición (Co) como negativo cuando en realidad es negativo, además el instrumento implementado en la presente tesis para el diagnóstico de láminas de pacientes con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia +++ tiene un 97.8 % de exactitud.

4.5.4. CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN -.

En este punto se detalla la sensibilidad, especificidad y exactitud del método de diagnóstico basado en el procesamiento de imágenes planteado en el presente trabajo, estos parámetros dentro del contexto en el que la condición (C-) son láminas de un paciente sin diagnóstico de tuberculosis (pacientes sanos), mientras que (Co) se define como láminas con diagnóstico de baciloscopia positiva +, ++, +++ y

paucibacilares.

Tabla 14: *Tabla 2X2 para validación de condición -.*

	C -	C o	Total
T+	10	0	10
T-	0	82	82
	10	82	92

Fuente: elaboración propia.

Aplicando Ecuación 1, tenemos:

Sensibilidad = 100 %

Aplicando Ecuación 2, tenemos:

Especificidad = 100 %

Aplicando Ecuación 3, tenemos:

Exactitud = 100 %

Interpretación:

En la Tabla 14 en la segunda columna para la cuarta celda se aprecia 10 láminas sin diagnóstico de tuberculosis o (C-), de los cuales el método implementado en la presente tesis catalogo acertadamente las 10 láminas para esta condición mientras que ninguna lamina fue catalogada.

En la Tabla 14 en la tercera columna para la cuarta celda se aprecia 82 láminas con condición de (Co) o diagnóstico de tuberculosis, de los cuales el método implementado en la presente tesis catalogo acertadamente a 82 láminas para esta condición mientras que

ninguna fue catalogada erróneamente para la condición (C-) siendo esta lámina de la condición (Co).

En la Tabla 14 en la cuarta columna para la cuarta celda se aprecia 92 láminas que son el tamaño de la muestra con un nivel de confianza del 75%, de las cuales 10 láminas fueron diagnosticadas por el algoritmo bajo la condición de (C-) mientras que 82 láminas fueron diagnosticadas negativamente para esta condición.

4.5.5. CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN PAUCIBACILAR

En este punto se detalla la sensibilidad, especificidad y exactitud del método de diagnóstico basado en el procesamiento de imágenes planteado en el presente trabajo, estos parámetros dentro del contexto en el que la condición (CP) son láminas de un paciente con diagnóstico de tuberculosis con solo baciloscopia positiva Paucibacilar mientras que (Co) se define como laminas con diagnóstico de baciloscopia positiva +, ++, +++ y -.

Tabla 15: *Tabla 2X2 para validación de condición Paucibacilar*

	C P	C o	Total
T+	8	1	9

T-	2	81	83
	10	82	92

Fuente: elaboración propia.

Aplicando Ecuación 1, tenemos:

Sensibilidad = 80 %

Aplicando Ecuación 2, tenemos:

Especificidad = 98.3 %

Aplicando Ecuación 3, tenemos:

Exactitud = 97.8 %

Interpretación:

En la Tabla 15 en la segunda columna para la cuarta celda se aprecia 10 láminas con tuberculosis positiva paucibacilar o (CP) de los cuales el método implementado en la presente tesis catalogo acertadamente a 8 láminas para esta condición mientras que 2 fueron catalogada erróneamente para otras condiciones (Co) siendo esta lámina con tuberculosis paucibacilar o (CP).

En la Tabla 15 en la tercera columna para la cuarta celda se aprecia 82 láminas con condición de (Co), de los cuales el método implementado en la presente tesis catalogo acertadamente a 81 láminas para esta condición mientras que 1 lámina fue catalogada erróneamente para la condición (CP) siendo esta lámina de la condición (Co).

En la Tabla 15 en la cuarta columna para la cuarta celda se aprecia 92 láminas que son el tamaño de la muestra con un nivel de confianza

del 75%, de las cuales 9 láminas fueron diagnosticadas por el algoritmo bajo la condición de (CP) mientras que 83 láminas fueron diagnosticadas negativamente para esta condición. Finalmente, existe una probabilidad del 80 % de clasificar una lámina de un paciente con diagnóstico positivo paucibacilar cuando en realidad es positiva. Mientras que existe una probabilidad del 98.3 % de clasificar una lámina con diagnóstico de paucibacilar como negativo cuando en realidad es negativo, además el instrumento implementado en la presente tesis para el diagnóstico de láminas de pacientes con diagnóstico de paucibacilar tiene un 97.8 % de exactitud.

4.5.6. TIEMPO DE LECTURA.

Para evaluar el tiempo de lectura, se procede a medir el tiempo de lectura del especialista por cada tipo de lectura de baciloscopia (+, ++, +++, - y paucibacilar) de tal manera que para una cruz se medirá el tiempo en identificar y contar los bacilos en 100 campos para cada una de las 20 muestras, de manera similar para los doble cruz, solo que se medirá el tiempo de lectura de identificación y conteo para 50 campos en cada una de las 20 muestras o laminas, para los triple cruz se medirá el tiempo de lectura para 20 campos en cada una de las 32 muestras o laminas y para los negativo y paucibacilares se medirá el tiempo para 100 campos en cada una de las 20 muestras o laminas repartidos para estos dos últimas lecturas, además se determinó con un timer en el método de diagnóstico implementado el tiempo de

identificación y conteo por cada imagen.

Siendo el tiempo de lectura por cada imagen en promedio 0.5 segundos, también se debe tener en cuenta que hay un tiempo de 3 segundos para la recolección de cada imagen, de manera que el tiempo requerido para el diagnóstico de las 92 imágenes se resume en el siguiente cuadro.

Tabla 16: *Tiempo requerido por algoritmo para las 92 láminas*

Lectura	# de láminas requeridas	# de imágenes requeridas	Tiempo requerido para recolectar imágenes (segundos)	Tiempo requerido para procesar imágenes (segundos)
+	20	2000	6000	1000
++	20	1000	3000	500
+++	32	640	1920	320
-	10	1000	3000	500
Paucibacilar	10	1000	3000	500
Total	92	5640	16920	2820

Fuente: elaboración propia.

Interpretación:

En la

Tabla **16** se tiene un tiempo de 16920 segundos requerido para el proceso de recolección de imágenes, es decir el tiempo que dura tomar fotografía con el microscopio LEICA ICC50 HD a las 5640 imágenes (para las 2000 imágenes de + se requirió 6000 segundos, para las 1000 imágenes de ++ se requirió 3000 segundos, para las 640 imágenes de +++ se requirió 1920 segundos, para las 1000 imágenes de - se requirió 3000 segundos, para las 1000 imágenes de paucibacilar se requirió 3000 segundos), además el tiempo requerido por el método de diagnóstico por procesamiento de imágenes implementado por el presente proyecto es de 2820 segundos, requiriendo un tiempo total de 19740 segundos (16920 y 2820 segundos).

Tabla 17: *Tiempo requerido por el especialista para leer las 92 láminas*

Lectura	# de láminas requeridas	# de imágenes requeridas	Tiempo de lectura por especialista (segundos)
+	20	2000	12000
++	20	1000	6000
+++	32	640	3840
-	10	1000	6000
Paucibacilar	10	1000	6000
Total	92	5640	33840

Fuente: elaboración propia.

Interpretación:

En la Tabla 17 se aprecia un tiempo total de 33840 segundos para realizar la lectura de 5640 imágenes o campos este tiempo se debe a que el especialista requiere 6 segundos para identificar, contar y anotar los bacilos encontrados en una hoja con 100 cuadrículas.

El tiempo requerido para leer 5640 imágenes o campos para el especialista es de aproximadamente 9 horas (33840 segundos) mientras que para el método basado en procesamiento de imágenes implementado en la presente tesis es de 5 horas (19740 segundos), existiendo una diferencia de 4 horas en el diagnóstico además hay que tener en cuenta que la recolección de datos para el procesamiento de campos en base a dicho método de lectura es alta (aproximadamente 4 horas), si no fuera por este hecho la diferencia sería más grande.

CONCLUSIONES.

1. Los métodos de procesamiento de imágenes identificados apropiados son (RGB, Dilatación y Canny) para diagnosticar la TBC en muestras bacteriológicas, el primer método “RGB” fue seleccionado debido a que la imagen sometida a este método tiene un alto grado de percepción de los píxeles de fondo con los bacilos; el segundo método “Dilatación” fue seleccionada debido a que este método presenta una pérdida mínima en el conteo y detección de bacilos ya que un bacilos segmentados cuando se aplica dilatación en grado 1; finalmente, el método “Canny” presenta mejores características de determinación de borde; ya que detecta mayor cantidad de bordes, reduce el ruido de la imagen y desecha los bordes falsos.
2. Se determinó al método de procesamiento digital “RGB” para establecer un espacio de color donde exista un significativo contraste entre intensidades de color de píxeles de los bacilos y el fondo de la imagen, ya que este método permite diferenciar los píxeles de fondo con los píxeles de posibles objetos de interés, puesto que cuando las muestras tienen un proceso de coloración de tinción de Ziehl-Neelsen inadecuado o simplemente la reacción química de las paredes de los bacilos son débiles, genera que los píxeles de fondo se confundan con los píxeles de los objetos de interés, mientras que el filtro HSV no capta estas imágenes imperceptibles, el filtro RGB si los capta, debido a que este, es más sensible entre el límite inferior (110, 60, 115) y límite superior (200, 135, 190), lo cual representa la

variación exacta de color de la reacción química que presenta el bacilo cuando se le aplica la técnica de coloración (ver página 45).

3. Se identificó al método “Dilatación” como método de procesamiento digital de imágenes para determinar la estructura de los posibles objetos de interés en el espacio de color, ya que este filtro con grado 1, permite unir objetos de interés con su parte segmentada (ver página 52), generando que la pérdida en el conteo y detección de bacilos sea mínima o nula, en lo que se refiere al filtrado de erosión, este hace que una posible segmentación de bacilos sea más significativa, implicando que bacilos u objetos de interés se fraccionen y no entrarían al conteo de bacilos.
4. Se seleccionó el método “Canny” como método de procesamiento digital de imágenes para determinar los bordes, identificar y contar los bacilos de Koch o *Mycobacterium tuberculosis*, ya que este filtro presenta mejores características de determinación de borde frente a Sobel (ver página 66), debido a que presenta mayor cantidad de bordes, reduciendo el ruido de la imagen original y desechando los bordes falsos, en cuanto al filtro de Sobel no cierra posibles objetos de interés, por lo tanto, hacer detecciones y por ende el conteo de los bacilos en objetos no definidos y no cerrados es imposible. Para el conteo de Bacilos de Koch y basado en la forma y tamaño de este se procedió a calcular el tamaño del perímetro y diámetro de los objetos de interés aprovechando herramientas del filtro de Canny se puede conocer estas dos características, el filtrado de perímetro nos da un valor de que tan grande es un objeto ubicado dentro de la zona de trabajo. Es así que

los objetos mayores de 150 píxeles son considerados como objetos de interés (ver página 68), finalmente para garantizar a un objeto como un bacilo, se determinó la forma del bacilo, lo cual se obtuvo estimando el diámetro de objetos con perímetro mayores a 150 píxeles, la estimación de la forma consiste en ubicar dos puntos extremos de un determinado objeto (ver página 69), finalmente se determinó como bacilo a aquel objeto que cumpla dos condiciones; el primero es que tenga un perímetro mayor a 150 píxeles y el segundo es que tenga un diámetro mayor a todos los objetos con un perímetro mayor a 150 píxeles.

5. El tiempo requerido para leer 5640 imágenes o campos para el especialista es de aproximadamente 9 horas (33840 segundos) mientras que para el método basado en procesamiento de imágenes implementado en la presente tesis es de 5 horas (19740 segundos), tomando en cuenta que la recolección de datos para el procesamiento de campos en base a dicho método de lectura es alta (aproximadamente 4 horas), ver página 91.
6. El diagnóstico generado por el método basado en procesamiento de imágenes implementado en el presente trabajo tiene un nivel de confianza mayor al 95 % y una exactitud mayor al 96 % para un tamaño de muestra es de 92 láminas con un nivel de confianza del 75 % provenientes de Redes de Salud y hospitales de la Región Cusco (ver página 82).

RECOMENDACIONES.

1. Construir un prototipo electrónico con el respectivo software para que realice movimientos milimétricos de enfoque (Z) y desplazamiento a la izquierda y derecha (XY) a los campos de interés de manera autónoma en base a una lente con un aumento de 100X; este prototipo tiene la finalidad de recolectar los datos, los cuales son las imágenes o campos de la lámina con muestra de esputo donde están ubicados los Bacilos de Koch.
2. Construir un sistema de iluminación para el adecuado enfoque de los campos de interés en las muestras de esputo.
3. Desarrollar un algoritmo basado en procesamiento de imágenes para la detección o diagnóstico de enfermedades que requieran identificación y conteo de bacterias, tal como la malaria.

BIBLIOGRAFÍA.

- Aliaga. (12 de Noviembre de 2018). *Piziadas*. Recuperado el 13 de 03 de 2017, de <http://piziadas.com/2011/02/editor-de-nodos-efectos-sobel-blender.html>
- Alonzo, P. M. (2009). *Espacios de Color RGB, HSI y sus Generalizaciones a n-Dimensiones*. Puebla: Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electronica.
- Aquino Camarena, O. A. (2011). *Control automático de adquisición de imágenes en un microscopio óptico binocular. software del prototipo*. Lima: PUC.
- Bovik. (2009). *The essential guide to image processing*. U.S.A: Academic Press.
- Canny. (1986). A Computational Approach to Edge Detection. En Canny, *transactions on pattern analysis and machine intelligence* (págs. 679-698). U.S.A: Ieee.
- Canzio, I. C. (2006). *Análisis de microestructura en hierro fundido nodular y evaluación de superficie de fractura en probetas de impacto charpy mediante el uso del software image-pro plus*. Lima: PUC.
- Castleman. (1996). *Digital Image Processing*. New Jersey: Prentice-Hall.
- Catarina. (14 de Noviembre de 2018). *Acervos Digitales Universidad de las Américas Puebla*. Obtenido de http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lis/ramos_r_m/capitulo3.pdf
- Contreras, M. M. (2016). *Segmentación de Imágenes de Color Inspirado en la percepción humana del color*. Estado de Mexico: Universidad autónoma del estado de Mexico centro universitario UAEM Texcoco.

- Espinoza Olguín, D. E., & Jorquera Guillen, P. I. (2015). *Reconocimiento Facial*. Valparaiso: Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
- Foley, & Van Dam. (1982). *Fundamentals of Interactive Computer Graphics*. Canada: Addison Wesley.
- Gonzalez, & Woods. (2002). *Digital image processing*. New Jersey: Prentice-Hall.
- Gonzalez, Wood, & Eddins. (2004). *Digital Image Processing Using MATLAB*. U.S.A: 1st Edition. USA: Pearson.
- Huamán, C. E., & Vásquez, F. E. (2000). *Nivel de conocimientos de tuberculosis pulmonar en los pacientes de tres centros de salud de la micro red San Martín de Porres, Lima 2014*. Lima: UCH.
- INS. (10 de Noviembre de 2018). *Manual de normas y procedimientos en bacteriología de Tuberculosis*. Obtenido de <http://www.bvs.ins.gob.pe/insprint/salud_publica/nor_tec/10.pdf>
- Jiang, Zhou, & SOM. (2004). *Ensemble based image segmentation*. U.S.A: Lett.
- Moctezuma, O. D. (2009). *Deteccion de bordes en tiempo real*. Cuernavaca: Centro Nacional de Investigación y Desarrollo Tecnológico.
- OMS. (2008). *Manual para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis*. Mexico: Direccion Regional de la organizacion mundial de la salud.
- Ong, Yeo, Lee, Venkatesh, & Cao. (2002). *Segmentation of color images using a two stage self organizing network*. U.S.A: Image Vis.

- OPS. (2008). *Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. Parte I: Baciloscopia.*
- Ormachea Quispe, J. (2011). *Estimación de áreas de heridas de leishmaniasis por procesamiento digital de imágenes y su correlación con la evolución al tratamiento.* Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Pajares, & De La Cruz. (2001). *Visión por Computador imágenes digitales y aplicaciones.* Mexico: Ra-Ma.
- Pandzic Saba, Y. A. (2013). *Diseño de un sistema automático de preparación de muestras de esputo para el diagnóstico de TBC.* Lima: PUC.
- Paredes, M. J., & Guerrero, G. L. (2012). *Estudio comparativo entre algoritmos de reconocimiento de borde para identificación de placas de autos.* Riobamba: Escuela superior politécnica de chimborazo, facultad de informática y electrónica, escuela de ingeniería electrónica en telecomunicaciones y redes.
- Reategui, W. J. (2013). *Estimacion automatica de la varianza y discriminacion de distribucion de ruidos en imagenes digitales.* Lima: UPC.
- Sánchez Carlessi, H., Reyes Romero, C., & Mejía Sáenz, K. (2018). *Manual de términos en investigación científica, tecnológica y humanística científica, tecnológica y humanística.* Lima: Universidad Ricardo Palma.
- Sato Yamada, J. J. (2013). *Microscopio automatizado: conteo de bacilos de Tuberculosis.* Lima: Pontificie Universidad Catolica del Peru.
- Shapiro, & Stockman. (2001). *Computer Vision.* New jersey: Prentice Hal.

- Soille. (1999). *Morphological image analysis : principles and applications*. U.S.A: Springer.
- Ticona Huaroto, J. E. (2017). *Análisis de características de forma del Bacilo de Koch para detección automática de Tuberculosis en imágenes digitales*. Lima: Pontificie Universidad Catolica del Peru.
- Valega Pacora, M. A. (2013). *Coprocador morfologico embebido usando arreglos sistolicos y con descripcion de hardware portable* . Lima: UPC.
- Wang, & Dong. (2012). *Multi-level low-rank approximation-based spectral clustering for image segmentation*. U.S.A: Pattern Recognit. Lett.

ANEXOS.

Protocolo de investigación.

Documento que se plantea para ser usado como base técnica en el desarrollo de la investigación denominada “Identificación de métodos de procesamiento digital de imágenes bacteriológicas microscópicas para el diagnóstico de la Tuberculosis”, cuyo estudio tiene un enfoque cuantitativo analítico de estimación de características operativas confiabilidad y exactitud, con pruebas de rutina o de referencia (Gold Standar) para el diagnóstico de Tuberculosis. Además la investigación corresponde a un estudio primario, observacional, analítico de corte transversal (cross-sectional) de datos de variables de diagnósticos de TBC, que evalúa el desempeño de dicho diagnóstico con muestras del laboratorio referencial de control de calidad de DIRESA.

La finalidad de este documento es establecer:

- Medidas de protección sanitario para realizar recolección de fotografías de campos de las muestras de esputo de baciloscopia en mencionado laboratorio de DIRESA.
- Proceso de recolección de fotografías de campos de las muestras de esputo de baciloscopia en mencionado laboratorio de DIRESA.
- Proceso de validación de herramienta tecnológica implementada en la presente investigación.

Medidas de protección sanitaria.

- Hay que usar Guantes, gafas de seguridad y mascarilla protectoras faciales

cuando se usa láminas de baciloscopia y seguir siempre los protocolos instituidos en el laboratorio.

- Seguir los protocolos determinados cuando se utilice los equipos con riesgo de contagio, como es el caso del microscopio LEICA.
- Evitar el contacto con equipos mojados y no tocar los equipos con las manos mojadas.

Proceso de recolección de datos.

Para la recolección de imágenes tomadas a los campos de las muestras de esputo de pacientes con síntomas de tuberculosis, se requiere que dichas muestras de esputo sean provenientes de la tinción de “ZIEHL NEELSEN”, es decir muestras que presenten la coloración “Fucsia” color característico de muestras generadas al ser sometidos a esta prueba de baciloscopia.

Las láminas deben de cumplir con las siguientes características:

- Láminas procesadas no mayor a 10 días de antigüedad (por la calidad de la fijación).
- Láminas con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia positiva +, baciloscopia positiva ++, baciloscopia positiva +++, baciloscopia negativa y paucibacilares.
- Láminas no deterioradas

El proceso consiste en tomar una fotografía a través de la cámara del microscopio LEICA al campo de la lámina una vez enfocada o visualizados posibles objetos de interés, el proceso consiste en tomar el tiempo de lectura para la identificación, conteo y diagnóstico de tuberculosis por parte del especialista, la cantidad de imágenes requeridas se detalla en la siguiente tabla:

Proceso de validación

El presente estudio tiene un enfoque cuantitativo analítico de estimación de confiabilidad (sensibilidad, especificidad) y exactitud de pruebas diagnósticas, ya que va a comparar el desempeño de diagnóstico de una “nueva” técnica contra técnicas de laboratorio utilizadas como pruebas de rutina o de referencia (Gold Standar) para el diagnóstico de Tuberculosis. En este contexto, para la validación de prueba diagnóstica se utilizará una tabla de 2X2 en la cual se visualiza el hecho de dada la existencia de un hallazgo “Y” o un Test, que tan probable es la existencia de una condición “X” o una lámina de un paciente con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia positiva +, baciloscopia positiva ++, baciloscopia positiva +++, baciloscopia negativa y paucibacilares.

Tabla 18: *Validación general.*

	C +	C o	
T+	VP	FP	Total T+
T-	FN	VN	Total T-
	Total C+	Total Co	n

Fuente: elaboración propia.

Dónde:

C + = Laminas con una condición dada, para esta investigación la condición es una lámina de un paciente con diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia positiva + ó baciloscopia positiva ++ ó baciloscopia positiva +++ ó baciloscopia negativa ó paucibacilares.

C o = Laminas con sin la condición dada, de manera similar esta

condición es una lámina de un paciente sin diagnóstico de tuberculosis con baciloscopia positiva + ó baciloscopia positiva ++ ó baciloscopia positiva +++ ó baciloscopia negativa ó paucibacilares.

T + = Variable independiente denominado Test Positivo que para la presente investigación se define como un diagnóstico (diagnóstico implementado en el presente trabajo) positivo para “+” ó “++” ó “+++” ó “-” ó paucibacilar.

T - = Variable independiente denominado Test Negativo que para la presente investigación se define como un diagnóstico (diagnóstico implementado en el presente trabajo) Negativo para “+” ó “++” ó “+++” ó “-” ó paucibacilar.

VP = Celda bajo el estado en que la lámina del paciente presente la condición (+, ++, +++, -, paucibacilar) cuando el test sea positivo.

VN = Celda bajo el estado en que la lámina del paciente no presente la condición (+, ++, +++, -, paucibacilar) cuando el test sea negativo.

FP = Celda bajo el estado en la que el test es positivo pero la lámina no presenta condición (+, ++, +++, -, paucibacilar).

FN = Celda bajo el estado en la que el test es negativo pero la lámina presenta condición (+, ++, +++, -, paucibacilar).

Total C+ = Total de láminas de pacientes que tienen la condición.

Total Co = Total de láminas de pacientes que no tienen la condición.

Total T+ = Total de láminas de pacientes con test positivo.

Total T- = Total de láminas de pacientes con test negativo.

n = tamaño de muestra.

Además, en base a la Tabla 10 se determina los valores de confiabilidad y exactitud para el test o método de diagnóstico basado en procesamiento de imágenes implementado para el presente trabajo y este en base al método Gold Estándar:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP+FN} \dots\dots \text{Ecuación 1}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN+FP} \dots\dots \text{Ecuación 2}$$

$$\text{Exactitud} = \frac{VP+VN}{VP+VN+FN+FP} \dots\dots \text{Ecuación 3}$$

Dónde:

VP: Verdadero positivo.

VN: Verdadero negativo.

FN: Falso negativo.

FP: Falso positivo.

CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN +.

La condición (C+) son láminas de un paciente con diagnóstico de tuberculosis con solo baciloscopia positiva +, mientras que (Co) se define como laminas con diagnóstico de baciloscopia positiva ++, +++, - y paucibacilares.

Tabla 19: Validación de condición +.

	C +	C o	
T+			
T-			
			92

Fuente: elaboración propia.

Sensibilidad = —%

Especificidad = —%

Exactitud = — %

CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN ++.

La condición (C++) son láminas de un paciente con diagnóstico de tuberculosis con solo baciloscopia positiva ++, mientras que (Co) se define como laminas con diagnóstico de baciloscopia positiva +, +++, - y paucibacilares.

Tabla 20: Validación de condición++.

	C ++	C o	
T+			
T-			
			92

Fuente: elaboración propia.

Sensibilidad = —%

Especificidad = —%

Exactitud = — %

CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN +++.

La condición (C+++) son láminas de un paciente con diagnóstico de tuberculosis con solo baciloscopia positiva +++, mientras que (Co) se define como laminas con diagnóstico de baciloscopia positiva +, ++, - y paucibacilares.

Tabla 21: *Validación de condición+++.*

	C +++	C o	
T+			
T-			
			92

Fuente: elaboración propia.

Sensibilidad = —%

Especificidad = —%

Exactitud = — %

CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN -.

La condición (C-) son láminas de un paciente sin diagnóstico de tuberculosis (pacientes sanos), mientras que (Co) se define como laminas con diagnóstico de baciloscopia positiva +, ++, +++ y paucibacilares.

Tabla 22: Validación de condición -.

	C -	C o	
T+			
T-			
			92

Fuente: elaboración propia.

Sensibilidad = —%

Especificidad = —%

Exactitud = — %

CONFIABILIDAD Y EXACTITUD DE CONDICIÓN PAUCIBACILAR

la condición (CP) son láminas de un paciente con diagnóstico de tuberculosis con solo baciloscopia positiva Paucibacilar mientras que (Co) se define como laminas con diagnóstico de baciloscopia positiva +, ++, +++ y –

Tabla 23: Validación de condición Paucibacilar

	CP	C o	
T+			
T-			
			92

Fuente: elaboración propia.

Sensibilidad = — %

Especificidad = — %

Exactitud = — %

TIEMPO DE LECTURA.

Para evaluar el tiempo de lectura, se procede a medir el tiempo de lectura del especialista por cada tipo de lectura de baciloscopia (+, ++, +++, - y paucibacilar) de tal manera que:

- Para una cruz se medirá el tiempo en identificar y contar los bacilos en 100 campos para cada una de las 20 muestras.
- Para doble cruz, solo que se medirá el tiempo de lectura de identificación y conteo para 50 campos en cada una de las 20 muestras o laminas.
- Para triple cruz se medirá el tiempo de lectura para 20 campos en cada una de las 32 muestras o laminas.
- Para negativos y paucibacilares se medirá el tiempo para 100 campos en cada una de las 20 muestras o laminas repartidos para estas dos últimas lecturas.

Tabla 24: *Tiempo requerido por especialista*

Lectura	# de láminas requeridas	# de imágenes requeridas	Tiempo de lectura por especialista (segundos)
+	20	2000	
++	20	1000	
+++	32	640	
-	10	1000	
Paucibacilar	10	1000	
Total	92	5640	

Fuente: elaboración propia.