

QUANTO, UM SOFTWARE PARA AUXILIAR A CARACTERIZAÇÃO DE
IMAGENS

EGLON RHUAN SALAZAR GUIMARÃES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

NOVEMBRO - 2016

QUANTO, UM SOFTWARE PARA AUXILIAR A CARACTERIZAÇÃO DE IMAGENS

EGLON RHUAN SALAZAR GUIMARÃES

Tese apresentada ao centro de ciência e tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de doutor em Engenharia e Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. D.sc. Angelus Giuseppe Pereira da Silva

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

NOVEMBRO - 2016

QUANTO, UM SOFTWARE PARA AUXILIAR A CARACTERIZAÇÃO DE
IMAGENS

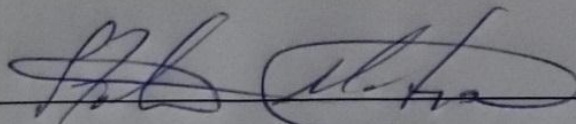
EGLON RHUAN SALAZAR GUIMARÃES

Tese apresentada ao centro de ciência e tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência dos Materiais.

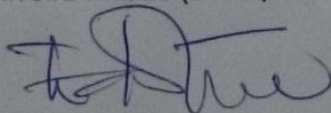
Orientador: Prof. D.sc. Angelus Giuseppe Pereira da Silva

Aprovada em 18 de novembro de 2016.

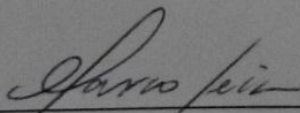
Comissão Examinadora:



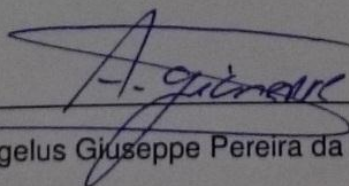
Prof. Italo de Oliveira Matias (D.Sc., Sistemas Computacionais) – UCAM



Prof. Edésio José Tenório de Melo (D.Sc., Ciências Biológicas) – UENF



Prof. Marco Antônio R. de Ceia (D.Sc., Engenharia de Reservatório e Exploração) -
UENF



Prof. Angelus Giuseppe Pereira da Silva (D.Sc., Ciências Técnicas) – UENF

Orientador

Dedico este trabalho à minha mãe Maria da Penha Salazar, da qual tenho muito orgulho de ser filho.

“A vida é apenas uma visão momentânea das maravilhas deste assombroso universo. ”

Carl Sagan

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Maria da Penha Salazar, por ser um exemplo de amor, superação e força.

A toda minha família, em especial minha mãe e minhas irmãs, Simone e Meryanne, por terem cuidado de mim sempre que precisei e por acreditarem no meu sucesso.

A todos os meus amigos, por serem tão presentes em minha vida e acreditarem no meu sucesso.

Ao meu orientador, Prof. Angelus Giuseppe Pereira da Silva, pelo grande conhecimento compartilhado e pela confiança depositada no momento em que precisei.

À Profa. Ana Lúcia Diegues Skury, pelo seu apoio incondicional, pela confiança depositada, pela grande contribuição pessoal e profissional e, principalmente, por ter se tornado grande exemplo em minha vida.

Ao Prof. Italo de Oliveira Matias, pela contribuição científica, por todo apoio durante a execução do trabalho, por todos os ensinamentos e conselhos que foram muito valiosos e pela amizade e parceria ao longo destes anos.

Aos professores integrantes da banca examinadora, Prof. Marco Antônio R. de Ceia, Prof. Edésio José Tenório de Melo, Prof. Italo de Oliveira Matias e Prof. Angelus Giuseppe Pereira da Silva, por toda contribuição que foi dada a este trabalho.

Aos meus amigos Michel Picanço, Chrystiano Araújo e Ianne Nogueira, por terem me ajudado com valiosos conselhos e por terem sido sempre tão solícitos nos momentos em que precisei.

Ao professor Edésio José Tenório de Melo, por ter cedido um importante estudo de caso para a aplicação da minha pesquisa.

Aos colegas Felipe Costa, Lais Pessanha e Soraya Mendonça, pela grande contribuição que me deram doando parte do seu tempo testando o Quanto e gerando dados que me permitiram concluir esta pesquisa.

A todos os amigos que fiz na Uenf, por dividirem os momentos de angústia durante o curso e por compartilharem a alegria e responsabilidade de ser um doutor.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	JUSTIFICATIVA.....	2
1.2	INEDITISMO	3
1.3	OBJETIVOS.....	3
1.3.1	<i>Objetivo geral</i>	3
1.3.2	<i>Objetivos específicos</i>	4
1.4	ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO	4
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1	MICROSCOPIA	6
2.1.1	<i>Microscópio óptico</i>	7
2.1.2	<i>Microscopia quantitativa</i>	10
2.2	ESTEREOLOGIA QUANTITATIVA	10
2.2.1	<i>Fração volumétrica por fração de pontos</i>	12
2.2.2	<i>Área superficial por unidade de volume teste</i>	14
2.2.3	<i>Comprimento por unidade de volume teste</i>	16
2.3	PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS	17
2.3.1	<i>Imagem digital</i>	18
2.3.1.1	<i>Vizinhança</i>	19
2.3.2	<i>Operações com histograma</i>	20
2.3.2.1	<i>Equalização do histograma</i>	20
2.3.3	<i>Técnicas de transformações de imagens</i>	21
2.3.3.1	<i>Brilho</i>	21
2.3.3.2	<i>Contraste</i>	22
2.3.4	<i>Operações lógicas e aritméticas</i>	23
2.3.5	<i>Segmentação</i>	24
2.3.5.1	<i>Convolução</i>	25
2.3.5.2	<i>Suavização de imagens</i>	26
2.3.5.2.1	<i>Filtro Média</i>	26
2.3.5.2.2	<i>Filtro Mediana</i>	27
2.3.5.2.3	<i>Gaussiana</i>	29
2.3.5.3	<i>Detecção de bordas</i>	30
2.3.5.3.1	<i>Sobel</i>	31
2.3.5.3.2	<i>Laplaciano</i>	32
2.3.5.3.3	<i>Canny</i>	33
2.3.5.4	<i>Limiarizar</i>	34
2.3.6	<i>Trabalhos relacionados</i>	35
2.3.6.1	<i>Contagem de elementos em imagens</i>	39
3	METODOLOGIA.....	42

3.1	RECURSOS UTILIZADOS.....	43
3.1.1	<i>Qt software</i>	43
3.1.2	<i>OpenCV</i>	44
3.2	ETAPAS DO DESENVOLVIMENTO DO SOFTWARE	44
3.2.1	<i>Primeira etapa</i>	45
3.2.1.1	Definir recursos e interface	45
3.2.1.2	Desenvolver código	45
3.2.1.2.1	Abrir e salvar imagem.....	45
3.2.1.2.2	Sair do programa.....	46
3.2.1.2.3	Operações de tratamento de imagens	46
3.2.1.2.4	Visualizar histograma	47
3.2.1.2.5	Zoom.....	47
3.2.1.3	Avaliar software internamente.....	47
3.2.2	<i>Segunda etapa</i>	48
3.2.2.1	Definir recursos e interface	48
3.2.2.2	Desenvolver código	48
3.2.2.2.1	Selecionar escala	48
3.2.2.2.2	Criar formas	48
3.2.2.2.3	Realizar contagem.....	49
3.2.2.2.4	Contagem automática	49
3.2.2.3	Distribuir Software	50
3.2.3	<i>Terceira etapa</i>	51
3.2.3.1	Definir recursos e interface	51
3.2.3.2	Desenvolver código	51
3.2.3.2.1	Salvar projeto e carregar projeto (criação da extensão “.qto”).....	51
3.2.3.2.2	Avançar para próxima imagem e retornar para imagem anterior	52
3.2.3.2.3	Salvar relatório.....	52
3.2.3.2.4	Exportar imagem	52
3.2.3.3	Fração volumétrica por fração de pontos.....	53
3.2.3.4	Área superficial por unidade de volume teste	53
3.2.3.5	Comprimento por unidade de volume teste	53
3.2.3.6	Distribuir Software	53
4	APRESENTAÇÃO DO SOFTWARE.....	55
4.1	INTERFACE GRÁFICA	55
4.2	FUNCIONALIDADES.....	58
4.2.1	<i>Selecionar escala</i>	58
4.2.2	<i>Criar formas</i>	59
4.2.3	<i>Operações morfológicas</i>	60
4.2.4	<i>Operações com histograma</i>	61
4.2.5	<i>Segmentações</i>	62

4.2.6	<i>Brilho e contraste</i>	65
4.2.7	<i>Operações lógicas e aritméticas</i>	65
4.2.8	<i>Filtros</i>	66
4.2.8.1	Filtros passa alta	67
4.2.8.2	Filtros passa baixa.....	67
4.2.9	<i>Contagem de partículas</i>	69
4.2.9.1	Contagem manual	71
4.2.9.2	Contagem automatizada	73
4.2.10	<i>Gerar relatório</i>	76
4.2.11	<i>Medições estereológicas</i>	77
4.2.11.1	Fração volumétrica por fração de pontos	78
4.2.11.2	Área superficial por unidade de volume teste	79
4.2.11.3	Comprimento por unidade de volume teste.....	80
5	ESTUDOS DE CASO	82
5.1	CONTAGEM DE CÉLULAS E PARASITAS	82
5.1.1	<i>Etapas do processo de contagem</i>	82
5.1.1.1	Escolher um campo representativo	84
5.1.1.2	Carregar imagem no Quanto.....	84
5.1.1.3	Realizar contagem.....	84
5.1.1.4	Geração de relatório.....	88
5.2	CONTAGEM DE PRODUÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS (NEPs).....	88
5.2.1	<i>Resultados da contagem de NEPs</i>	89
5.3	QUANTIFICAÇÃO DE FERRITA- Δ NO METAL DE SOLDA INOXIDÁVEL AUSTENÍTICO	91
5.3.1	<i>Metodologia de contagem utilizada em Mendonça (2014)</i>	92
5.4	METODOLOGIA DE CONTAGEM UTILIZANDO O QUANTO.....	93
5.4.1	<i>Resultados da quantificação de ferrita- δ</i>	94
6	CONCLUSÃO	98
6.1	TRABALHOS FUTUROS	99
7	REFERÊNCIAS	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Componentes básicos do microscópio óptico. 1. Lentes oculares; 2. Revólver 3; Lentes objetivas; 4. Parafuso macrométrico; 5. Parafuso micrométrico; 6. Platina; 7. Foco luminoso (Lâmpada ou espelho); 8. Condensador e diafragma; 9. Braço (Moreira, 2016).	9
Figura 2.2 - Esquema de um microscópio óptico (Maurer, 2005).	9
Figura 2.3 - (a) estrutura tridimensional sendo seccionada; (b) visualização dos diferentes elementos estruturais em um plano de corte (Da Silva, 2007).	11
Figura 2.4 - Fluxograma das etapas de preparação e caracterização de imagens (Da Silva, 2007).	12
Figura 2.5 -Processo necessário para o cálculo da fração volumétrica por fração de pontos de um plano de corte da estrutura de uma liga de metal duro WC-16% _{peso} Co. (a) imagem original; (a) imagem segmentada e com uma malha de pontos vermelhos (Da Silva, 2007 adaptada).....	14
Figura 2.6 - Cálculo da área superficial por unidade de volume teste (Da Silva, 2007 adaptada).	15
Figura 2.7 - Cálculo do comprimento por unidade de volume teste.	16
Figura 2.8 - Imagem digital com as referências aos eixos x e y (Nogueira, 2013)	18
Figura 2.9 - vizinhança dos pixels: (a) N4(p); (b) Nd(p); (c) N8(p). Adaptada de Marques Filho e Vieira Neto (1999).....	19
Figura 2.10 - Processo de equalização do histograma. (a) imagem original com seu respectivo histograma; (b) imagem equalizada com seu respectivo histograma.....	21
Figura 2.11 – Operação de brilho em uma imagem. Alto nível de brilho (a); imagem original (b); baixo nível de brilho (c).	22
Figura 2.12 - Exemplos de histograma com diferentes níveis de contraste. (a) histograma com baixo contraste; (b) histograma com alto contraste (Solomon e Breckon, 2011).	23
Figura 2.13 - Operação de contraste em uma imagen. Baixo nível de contraste (a); imagem original (b); alto nível de contraste (c).....	22
Figura 2.14 - Aplicação do filtro Média. (a) parte da imagem original em 256 tons de cinza; (b) resultado da aplicação do filtro média no pixel central.	26
Figura 2.15 - Aplicação do filtro média; (a) Imagem original;(b) filtro com máscara 3x3; (c) filtro com máscara 5x5; (d) filtro com máscara 7x7; (e) filtro com máscara 9x9...	27
Figura 2.16 - Aplicação do filtro mediana; (a) Imagem original;(b) filtro com máscara 3x3; (c) filtro com máscara 5x5; (d) filtro com máscara 7x7; (e) filtro com máscara 9x9.	28
Figura 2.17 - Aplicação do filtro Mediana. (a) parte da imagem original em 256 tons de cinza; (b) resultado da aplicação do filtro mediana no pixel central.	29
Figura 2.18 - Aplicação do filtro Gaussiano; (a) Imagem original;(b) resultado do filtro com máscara 3x3; (c) resultado do filtro com máscara 5x5; (d) resultado do filtro com máscara 7x7; (e) resultado do filtro com máscara 9x9.....	30

Figura 2.19 - Máscaras do operador de Sobel 3x3. (a) Operador horizontal (G_x); (b) Operador vertical (G_y).....	31
Figura 2.20 - imagem original em tom de cinza (a); imagem após executar o filtro sobel com máscara 3x3 (b) (Gonzalez e Woods, 2002).	32
Figura 2.21 - Aplicação do operador Laplaciano. (a) imagem original; (b) resultado da aplicação do laplaciano de dimensões 3x3.	33
Figura 2.22 - imagem original em tom de cinza (a); imagem após execução do filtro Canny com máscara 3x3 (b).	34
Figura 2.23 - Exemplo de limiarização. (a) imagem original; (a) imagem limiarizada (Univanet, 2016).....	35
Figura 3.1 - Fluxograma de desenvolvimento do software.....	42
Figura 3.2 - Exemplo de aplicação da função TemplateMatching. (a) imagem original; (b) template utilizado; (c) imagem em tons de cinza gerada pela função como resultado.....	50
Figura 4.1 - Interface gráfica do Quanto. 1) barra de menu; 2) caixas de ferramentas; 3) painel lateral de funcionalidades; 4) ferramentas de criação de formas; 5) área de trabalho; 6) painel de snapshot.	55
Figura 4.2 - Mensagem do Quanto ao clicar na opção de selecionar escala.	58
Figura 4.3 - Tela do Quanto no processo de definir escala.	59
Figura 4.4 - Exemplo de criação de formas no Quanto.	60
Figura 4.5 - Exemplos de operações morfológicas no Quanto. (a) imagem após ser executado três vezes o processo de dilatação. (b) imagem após ser executado três vezes o processo de erosão.....	61
Figura 4.6 - Exemplo de uso da opção visualizar histograma.	61
Figura 4.7 - Exemplo de execução da operação equalizar histograma. (a) imagem original; (b) resultado do histograma equalizado.....	62
Figura 4.8 - Exemplo de operação de transformação da imagem em tons de cinza no Quanto. (a) imagem original; (b) resultado da operação.	62
Figura 4.9 - Exemplo de aplicação da limiarização de uma imagem no Quanto.	64
Figura 4.10 - Exemplo de aplicação da operação de negativa no Quanto. (a) imagem original; (b) resultado da operação.....	64
Figura 4.11 - Janela de ajuste de brilho e contraste.....	65
Figura 4.12 - Janela de operações lógicas e aritméticas.	66
Figura 4.13 - Tela de configuração da máscara para executar um determinado filtro.	66
Figura 4.14 - Exemplo de aplicação dos filtros passa alta no Quanto com máscara de 3x3. (a) imagem original; (b) resultado da aplicação do Sobel; (c) resultado da aplicação do Laplaciano; (d) resultado da aplicação do Canny.....	67
Figura 4.15 - Exemplo de aplicação dos filtros passa baixa com máscaras de 9x9. (a) imagem original; (b) resultado da aplicação do filtro média; (c) resultado da aplicação da mediana; (d) resultado da aplicação do filtro Gaussiano.....	68

Figura 4.16 - Resultado da operação de filtro Sobel antes e após a execução do filtro de suavização mediana. (a) Filtro Sobel aplicado sobre a imagem original; Filtro Sobel aplicado após duas execuções do filtro mediana com máscaras 9x9.	69
Figura 4.17 - Parte do painel de funcionalidades presente no lado esquerdo da tela inicial do Quanto com destaque nos botões incluir e excluir tipos.....	70
Figura 4.18 - Tela para informar o tipo a ser incluído.	70
Figura 4.19 - Tela principal do Quanto com destaque no botão iniciar.	71
Figura 4.20 - Processo de contagem manual no Quanto.	72
Figura 4.21 - Tela de contagem automatizada no Quanto após selecionar o template e ajustar a correlação.....	74
Figura 4.22 - Tela principal do Quanto após utilizar o processo de contagem automatizada.....	75
Figura 4.23 - Contagem automatizada realizado em uma imagem após duas execuções do filtro mediana com máscara de 9x9.....	76
Figura 4.24 - Relatório gerado pelo Quanto.	77
Figura 4.25 - Aba "Estereologia" do painel lateral de funcionalidades com os botões relacionados às medições estereológicas.	78
Figura 4.26 - Tela do Quanto ao se realizar o cálculo de fração volumétrica por fração de pontos.....	79
Figura 4.27 - Tela do Quanto ao se realizar o cálculo da área superficial por unidade de volume teste.	80
Figura 4.28 - Tela do Quanto ao se executar o cálculo do comprimento por unidade de volume teste.	81
Figura 5.1 - Fluxogramas com as etapas necessárias para a contagem de células e parasitas, (a) procedimento tradicional; (b) procedimento utilizando o Quanto.....	83
Figura 5.2 - Contador manual de células.	85
Figura 5.3 - Comparação entre os tempos médios de contagem manual pelo processo tradicional e a contagem manual pelo Quanto. (a) tempos de contagem de uma lamínula do tratamento com Trypanossoma cruzi; (b) tempos de contagem de uma lamínula do tratamento com Toxoplasma gondii; (c) tempos totais do ensaio com Trypanossoma cruzi; (d) tempos totais do ensaio com Toxoplasma gondii.....	86
Figura 5.4 - Tempos de contagem de NEPs.....	90
Figura 5.5 - Tempo total de contagem de nematoides incluindo as seis amostras analisadas.	91
Figura 5.6 - Micrografia de ferrita delta com malha de 100 pontos sobreposta (Mendonça, 2014).	93
Figura 5.7 - Micrografia de ferrita delta binarizada e submetida à análise de fração volumétrica por fração de pontos no Quanto.....	94
Figura 5.8 - Tempo de análise da ferrita- δ através do método manual e do método proposto com o uso do Quanto.	97

LISTA DE QUADROS

Quadro 3.1 - Funcionalidades inseridas com o auxílio de funções do OpenCv	47
Quadro 4.1 - Composição e hierarquia da barra de menus do Quanto.....	56
Quadro 4.2 - Operações disponíveis no Quanto e suas respectivas teclas de atalho. ...	58
Quadro 5.1 - Tempos de contagem de células e parasitas utilizando o Quanto.....	84
Quadro 5.2 - Tempos de contagem do processo manual, sem uso de softwares.	85
Quadro 5.3 - Resultados da contagem de nematoides pelo método tradicional e pelo uso do Quanto.....	89
Quadro 5.4 - Quantitativo de amostras analisadas (Mendonça, 2014 adaptada).	92
Quadro 5.5 - Resultados da quantificação de ferrita delta por meio do método manual utilizado em Mendonça (2014) e por meio do Quanto.	95
Quadro 5.6 - Tempo gasto para a quantificação da ferrita delta por meio do Quanto.	96

RESUMO

A visão computacional e o processamento de imagens digitais estão se tornando fundamentais para a rotina de pesquisadores e de empresas através da possibilidade de se substituir tarefas manuais por rotinas automatizadas. O presente trabalho tem por objetivo desenvolver um software simples e intuitivo para servir de ferramenta em diversos processos de contagem de elementos em imagens, podendo substituir processos que tradicionalmente são executados de forma manual. Este software foi denominado Quanto e, além das funcionalidades de contagem manual e automatizada, possui diversos recursos de tratamento de imagens, tais como: opções de segmentação, Operações lógicas e aritméticas, operações morfológicas, criação de formas, entre outros. O software foi desenvolvido utilizando recursos multiplataforma, que possibilitam seu uso em diferentes sistemas operacionais. Experimentos práticos foram realizados em ambientes reais de pesquisa envolvendo contagem de células e parasitas, contagem de produção de nematoides e quantificação de ferrita delta. Os resultados mostraram que seu uso pode reduzir o tempo de trabalho em até 95%, além de trazer benefícios consideráveis de ergonomia, conforto, precisão dos resultados, reprodutibilidade, flexibilidade de trabalho e economia de energia, otimizando estudos e análises científicas ou processos industriais.

Palavras chave: Contagem de Elementos; Processamento de Imagens; Estereologia; Análise Quantitativa.

ABSTRACT

Computer vision and digital image processing become fundamental in the routine of researchers and companies through the possibility of replacing manual tasks by automated routines. This work aims to develop a simple and intuitive software to be as a tool in many processes of counting elements in images and replace processes which are traditionally executed manually. This software has been called Quanto and, in addition to the manual and automated counting features, it has several image processing features, such as: segmentation, Logical and arithmetic operations, morphological operations, geometric shapes creation, and others. This software was developed using cross-platform features which allow its use in different operating systems. Practical experiments were carried out in real research environments involving cell and parasite count, nematode production count and delta ferrite quantification. The results showed that its use can reduce working time by up to 95%, as well as bring considerable benefits of ergonomics, comfort, precision of the results, reproducibility, flexibility of work and energy saving and then optimize scientific analysis or industrial processes.

Keywords: Elements Count; Digital Image processing; stereology; Quantitative analysis.

1 INTRODUÇÃO

O microscópio óptico é uma ferramenta largamente utilizada na pesquisa e desenvolvimento de diversas áreas do conhecimento, tais como: Engenharia de minas, engenharia de petróleo, ciência dos materiais, medicina, medicina veterinária, odontologia, biologia e outras. Conforme estes equipamentos vêm, ao longo dos anos, sendo melhorados, desempenham um papel fundamental na evolução das ciências naturais e biológicas, estendendo a capacidade dos olhos humanos para um mundo que não seria possível de se enxergar sem o seu uso (Goldenstein, 2016; Bandeira, 2005; Berenice e Carmem, 2007).

O microscópio óptico permaneceu afastado da área computacional por um longo período de tempo, em que somente era possível visualizar as imagens diretamente nas lentes dos microscópios e registrá-las em filme de celuloide. Entretanto, o advento das câmeras digitais representou uma grande evolução para a análise de imagens de microscópios. Ao se acoplar uma câmera digital em um microscópio óptico, torna-se possível capturar imagens digitais de forma simples e rápida, permitindo realizar análises quantitativas destas imagens (Sales, 2014).

Uma ferramenta capaz de realizar análise quantitativa de imagens de microscópios é a chamada estereologia quantitativa. Oliveira (2013) salienta que as principais vantagens desta técnica são: a eficiência, simplicidade, validade e a aplicabilidade ampla. As técnicas estereológicas oferecem maneiras eficientes de se estimar alguns parâmetros numéricos, tais como: áreas, tamanhos, volumes, densidades e números de populações de um material sólido em amostras como seções planas (Oliveira, 2013).

Uma das principais vertentes da estereologia é a contagem de elementos em imagens. Esta prática se faz presente e necessária para várias finalidades, nas mais diversas áreas. Geuna (2005) afirma que a técnica de contagem de partículas através da microscopia é uma das mais importantes descobertas da pesquisa desde o início da era científica. Entretanto, este processo pode ser demorado e impreciso. Isto dependerá fortemente da técnica a ser utilizada, dos recursos disponíveis (que podem ser computacionais ou não) e da qualidade das imagens a serem analisadas.

Diante disto, as técnicas de processamento digital de imagens podem representar grande avanço na estereologia, sobretudo para contagens de elementos em

imagens e procedimentos de medições estereológicas (os quais também podem envolver contagem). De 1964 aos dias atuais, a área de processamento de imagens vem apresentando crescimento expressivo e suas aplicações permeiam quase todos os ramos da atividade humana. Em Medicina, o uso de imagens no diagnóstico médico tornou-se rotineiro, permitindo tanto o desenvolvimento de novos equipamentos quanto a maior facilidade de interpretação de imagens produzidas por equipamentos mais antigos. Em Biologia, a capacidade de processar automaticamente imagens obtidas de microscópios, representa grande avanço com ganho de tempo, precisão e reprodutibilidade nos processos. Técnicas de restauração de imagens auxiliam arqueólogos a recuperar fotos borradas de artefatos raros, já destruídos. O uso de robôs dotados de visão artificial em tarefas de controle de qualidade em linhas de produção aumenta a cada ano, permitindo expandir o setor de automação industrial. Inúmeras outras áreas distintas como Astronomia, Segurança, Publicidade e Direito vêm sendo beneficiadas com os avanços nas áreas de processamento de imagens e visão por computador (Marques Filho e Vieira Neto, 1999).

1.1 Justificativa

A visão computacional e o processamento de imagens digitais estão se tornando fundamentais para a rotina de empresas e de pesquisadores através da possibilidade de se realizar tarefas automatizadas em substituição ao trabalho manual. Desta forma, esta técnica se mostra como uma ótima solução para redução de gastos, de tempo e de erros nos processos, além da possibilidade de criação de padrões de qualidade (Gallon, 2013).

O presente trabalho se justifica pela possibilidade de substituir diversos procedimentos de contagem de elementos em imagens de microscópios, que ainda são realizados manualmente, por procedimentos supervisionados e auxiliados por um programa de computador. Ao realizar esta mudança, vislumbra-se grande melhora em ergonomia, flexibilidade de trabalho, conforto na realização das tarefas, reprodutibilidade e, principalmente, tempo e precisão dos resultados. Problemas estes inerentes aos métodos manuais de contagem, que requerem grande concentração por parte do operador, aumentando a possibilidade de erros humanos. Intenciona-se com esta pesquisa, desenvolver, para a indústria e para a academia, uma ferramenta que ofereça recursos de auxílio e automatização de processos. Reduzindo erros e aumentando conforto e produtividade no trabalho.

1.2 Ineditismo

A pesquisa bibliográfica realizada identificou a oportunidade de criação deste software com funcionalidades ainda não existentes na ciência dos materiais, assim como em biologia, que consiste em uma ferramenta que congregue as principais funcionalidades de análise de imagens relacionadas a contagem de elementos.

Diante da natureza deste trabalho, além da ampla pesquisa bibliográfica nas bases Scopus e Scielo, foi realizada uma grande análise prática utilizando os softwares já disponíveis no mercado a fim de identificar as funcionalidades já disponíveis para o uso. Desta forma, foi possível identificar que alguns softwares já se propõem a auxiliar o processo de contagem de elementos em imagens, entretanto, este recurso tido como um adicional aos programas e nenhum deles foi elaborado especificamente para a contagem de elementos, possuindo assim diversas desvantagens, tais como: ausência de processos automatizados eficientes, dificuldades para contagem sequencial de várias imagens, dificuldades para corrigir erros de contagem, geração ineficiente de relatórios, entre outros.

Diante disto, o Quanto foi desenvolvido para ser especialista em contagem de elementos em imagens, diferentemente das outras ferramentas. Os recursos desenvolvidos no software dedicam-se a realizar principalmente as tarefas identificadas como inexistentes ou ineficientes nos programas analisados.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem por objetivo desenvolver um software simples e intuitivo que servirá de ferramenta para diversos processos de contagem de elementos em imagens, podendo substituir processos que tradicionalmente são executados de forma manual. Este software foi denominado Quanto e, além das funcionalidades de contagem manual e automatizada, possui diversos recursos de tratamento de imagens, tais como, opções de segmentação, Operações lógicas e aritméticas, operações morfológicas, criação de formas, entre outros.

1.3.2 Objetivos específicos

- Desenvolver um software simples e intuitivo para contagem de elementos em imagens com uso dos recursos multiplataforma Qt Creator e OpenCv;
- Implementar recursos de tratamento de imagens, tais como, opções de segmentação, filtros, Operações lógicas e aritméticas, operações morfológicas e criação de formas;
- Implementar recursos de contagem manual através do software, registrando com uma marcação os elementos contados;
- Implementar recursos de contagem automatizada, permitindo que o usuário faça ajustes retirando ou incluindo pontos de contagem;
- Implementar recursos de medições estereológicas, tais como, fração volumétrica por fração de pontos, área superficial por unidade de volume teste e comprimento por unidade de volume teste;
- Implementar recursos de geração automática de relatório com os dados trabalhados no software;
- Realizar experimentações em problemas reais com o uso do software;
- Distribuir o software;
- Substituir processos de contagem manual de elementos em microscópio, melhorando questões como, tempo de trabalho, ergonomia, precisão de resultados, flexibilidade de trabalho, entre outros.

1.4 Organização do trabalho

O presente capítulo descreve a introdução do trabalho desenvolvido, detalhando sua justificativa, seus objetivos e a organização da escrita.

O capítulo 2 exibe a revisão bibliográfica, em que se vê a fundamentação teórica que serviu de base para o desenvolvimento de toda pesquisa, descrevendo conceitos de microscopia, estereologia quantitativa e de processamento digital de imagens, utilizados para implementação do software proposto. Este capítulo também possui uma seção de trabalhos relacionados, que serve para contextualizar esta investigação.

A metodologia utilizada é descrita no capítulo 3, em que são apresentados os recursos e técnicas utilizadas no desenvolvimento do software, assim como as etapas de seu desenvolvimento.

Os resultados obtidos neste trabalho são apresentados nos capítulos 4 e 5. O capítulo 4 realiza uma apresentação do software, mostrando os principais recursos implementados no programa. O capítulo 5 possui alguns estudos de casos envolvendo diferentes tipos de contagem e análise em ambientes reais, feitas por meio do software proposto. Neste capítulo também são feitas discussões acerca das experiências de uso do aplicativo reportadas pelos pesquisadores, além de comparações entre o método proposto por este trabalho e os métodos tradicionais.

No capítulo 6 é apresentada a conclusão obtida ao final do trabalho, detalhando as conclusões quanto aos objetivos, ao trabalho realizado e aos trabalhos futuros que evidenciam os caminhos para a continuação desta pesquisa.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Microscopia

Existem evidências de que já na antiguidade havia tentativas de reforçar a visão com auxílio de dispositivos ópticos. Nas escavações de Ninive foram encontrados pedaços de vidro polido cuja interpretação mais aceita é o seu uso como lentes. Aristóteles, no século IV a.C. referiu-se a uma lente ao descrever o uso de globos de vidro para aumentar imagens (Mannheimer, 2002).

Existem algumas divergências com relação à invenção do microscópio composto, uma forma mais versátil e mais parecida como a que se usa nos tempos atuais. A maioria dos historiadores acredita que sua origem se deu na Holanda por volta do ano de 1600 e que os inventores foram Jansen ou Lippershey. Todavia, há consenso que entre 1650 e 1750 houve um grande desenvolvimento mecânico dos microscópios (Mannheimer, 2002).

Conforme os microscópios vêm, ao longo dos anos, sendo melhorados, estes equipamentos também desempenham um papel fundamental na evolução das ciências naturais e biológicas, estendendo a capacidade dos olhos humanos para um mundo que não seria possível de se enxergar sem o seu uso (Goldenstein, 2016).

O uso de microscópio é considerado indispensável no processo evolutivo contínuo em diversas áreas da ciência, sendo essencial em pesquisas e desenvolvimento em: Engenharia de minas, engenharia de petróleo, ciência dos materiais, medicina, medicina veterinária, odontologia, biologia e outras. (Bandeira, 2005; Berenice e Carmem, 2007; Dias, 2008; Fazano, 2005; Goldenstein, 2016; Maurer, 2005; Wagner *et al.*, 2009).

A observação de microestruturas é de grande importância para a pesquisa e o desenvolvimento de materiais, uma vez que ajuda a estabelecer uma relação entre as estruturas e as propriedades destes materiais (DIAS, 2008).

Existem diversos tipos de microscopia, dentre os quais destacam-se: Microscopia Ótica (MOT), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e Microscopia de Ponta de Prova (MPP) (Mannheimer, 2002; Wagner *et al.*, 2009). Dentre estes tipos de microscopias, os que possuem maior utilização na área de ciência e engenharia de materiais são MOT e MEV (Mannheimer, 2002; Dias, 2008; Gomes, 2001).

2.1.1 Microscópio óptico

O microscópio óptico atual utiliza um conjunto de lentes para aumentar uma imagem e, diante disto, é também conhecido como microscópio composto. Estes equipamentos são basicamente constituídos de componentes mecânicos e componentes ópticos. Os componentes ópticos possuem duas funcionalidades: iluminar o objeto e formar do mesmo uma imagem aumentada para que possa ser observada ou fotografada. O sistema mecânico é destinado a manter os elementos ópticos e as amostras em posição relativa. Em relação aos componentes mecânicos, um microscópio de qualidade deve possuir estabilidade, rigidez, flexibilidade de trabalho e boa ergonomia na operação. A Figura 2.1 ilustra os componentes básicos do MO (Mannheimer, 2002; Moreira, 2016; Maurer, 2005).

Os componentes mecânicos do microscópio são (Mannheimer, 2002; Moreira, 2016):

- **Pé ou base** – Oferece apoio a todos os componentes do microscópio;
- **Braço** – componente fixo à base que serve de suporte às lentes e à platina;
- **Platina** – base de suporte e fixação da preparação, tem uma abertura central (sobre a qual é colocada a preparação) que deixa passar a luz. As pinças ajudam a fixação da preparação. Nos microscópios mais modernos a platina pode ser deslocada, nos mais antigos tinha que se mover a própria amostra, segura pelas pinças;
- **Revólver** – suporte das lentes objetivas, permite trocar a lente objetiva rodando sobre um eixo;
- **Tubo ou canhão** – suporta a ocular na extremidade superior;
- **Parafuso macrométrico** – permite movimentos verticais de grande amplitude da platina;
- **Parafuso micrométrico** – permite movimentos verticais lentos de pequena amplitude da platina para focagem mais precisa da imagem.

Os componentes ópticos do microscópio são (Moreira, 2016; Mannheimer, 2002; Lins e Alécio, 2014):

- **Condensador** – sistema de duas lentes (ou mais) convergentes que orientam e distribuem a luz emitida de forma igual pelo campo de visão do microscópio;
- **Diafragma** – regula a quantidade de luz que atinge o campo de visão do microscópio através de uma abertura que abre ou fecha em diâmetro;
- **Fonte luminosa** – luz emitida por uma lâmpada incluída no próprio microscópio com um interruptor e algumas vezes com um reostato (um tipo de resistor) que permite regular a intensidade da luz. Os modelos mais antigos tinham um espelho de duas faces: a face plana para refletir luz natural e a face côncava para refletir luz artificial;
- **Lente ocular** – cilindro com duas ou mais lentes que permitem ampliar a imagem real fornecida pela objetiva, formando uma imagem virtual mais próxima dos olhos do observador. As oculares podem ser de diferentes ampliações;
- **Lente objetiva** – conjunto de lentes fixas no revolver que, ao ser girada, permite alterar a ampliação necessária. É a lente que fica mais próxima do objeto a observar, projetando uma imagem real, ampliada e invertida do mesmo. As objetivas secas, geralmente com ampliação de 10x, 40x e 50x, são assim designadas porque, entre a sua extremidade e a preparação, existe somente ar. Já as objetivas de imersão (ampliação até 100x) têm a sua extremidade mergulhada em óleo com o intuito de aumentar o poder de resolução da objetiva. Como o índice de refração de óleo é semelhante ao do vidro, o feixe de luz não é demasiadamente desviado para fora da objetiva.

A Figura 2.2 apresenta um esquema do funcionamento do MO. Nele, raios luminosos emitidos no filamento de uma lâmpada de halogênio são concentrados num feixe através da lente do condensador, que focaliza a luz no espécime. Esta luz entra por uma das lentes objetivas do aparelho, as quais possuem aumentos que variam de 4 a 100 vezes, atingem a lente ocular, que promove mais um aumento na imagem e, finalmente, atingem o olho do observador. Existem diversas lentes dispostas em um cilindro rotatório que permite a escolha de uma delas para observação (Maurer, 2005).

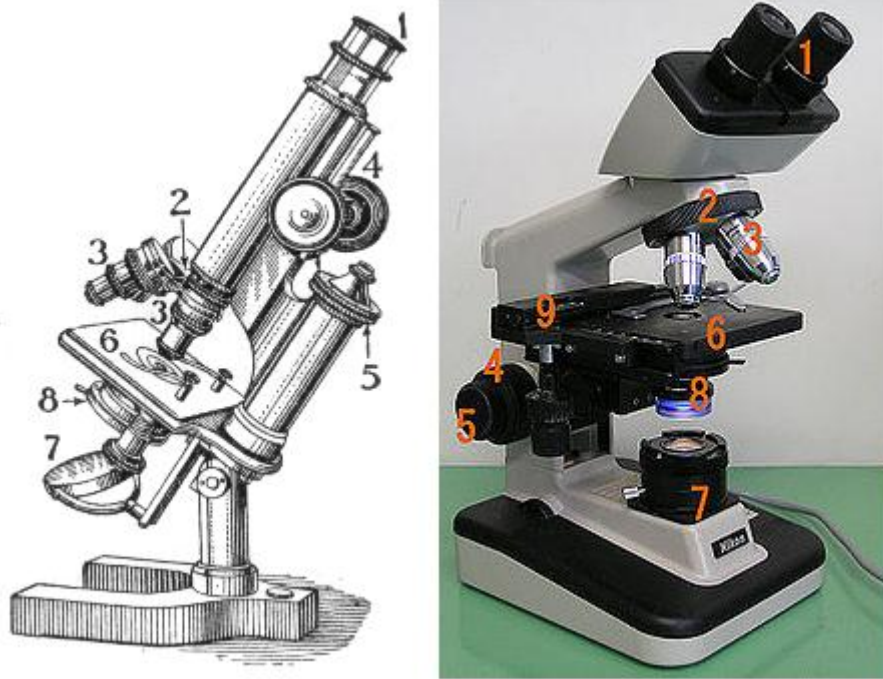


Figura 2.1 - Componentes básicos do microscópio óptico. 1. Lentes oculares; 2. Revólver 3; Lentes objetivas; 4. Parafuso macrométrico; 5. Parafuso micrométrico; 6. Platina; 7. Foco luminoso (Lâmpada ou espelho); 8. Condensador e diafragma; 9. Braço (Moreira, 2016).

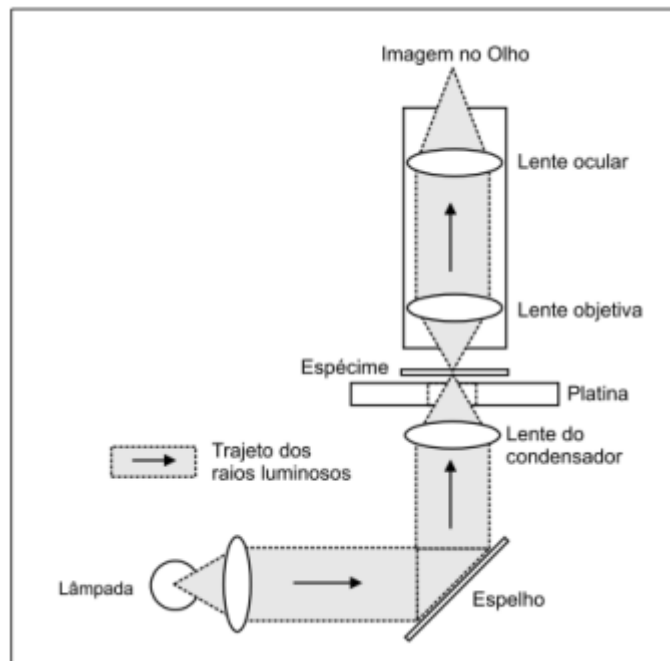


Figura 2.2 - Esquema de um microscópio óptico (Maurer, 2005).

2.1.2 Microscopia quantitativa

A microscopia quantitativa refere-se à medida de parâmetros microestruturais dos materiais estudados e pode ser definida como "um conjunto de métodos para a exploração do espaço tridimensional a partir da disponibilidade de seções bidimensionais através de corpos sólidos, ou de projeções sobre uma superfície". Estas técnicas de medições quantitativas utilizam recursos de probabilidade e estatística com a finalidade de obter conclusões sobre as características volumétricas da microestrutura pela interpretação de medidas executadas sobre uma seção plana (Mannheimer, 2002).

Estas medições quantitativas são normalmente realizadas em superfícies opacas sobre o plano de cortes da estrutura e sua utilização é ampla em áreas como: medicina, medicina veterinária, biologia, geologia, metalurgia, engenharias civil, de petróleo, de minas e de materiais (Padilha, 2007; Moura, 2011; Gondim, 2012).

Existem várias terminologias para definir as medições realizadas por estas técnicas de extração de informações a partir de imagens obtidas em microscópios. Anteriormente se empregava o termo materialografia quantitativa, em 1958, sofreu evolução em seu termo e passou a ser chamada de metalografia quantitativa até que, em 1961, sofreu uma nova alteração para estereologia quantitativa, que é usado até os dias de hoje (Padilha, 2007; Mannheimer, 2002). A seção 2.2 apresenta com mais profundidade os assuntos e técnicas da estereologia quantitativa (EQ).

2.2 Estereologia quantitativa

A estereologia quantitativa pode ser definida como: "Um conjunto de métodos matemáticos, relacionando parâmetros tridimensionais que definem uma estrutura com medidas bidimensionais obtidas em cortes desta estrutura" ou ainda "um conjunto de procedimentos geométricos e estatísticos que permitem obter informações sobre estruturas tridimensionais, a partir da análise de imagens planas, bidimensionais, como aquelas obtidas em cortes histológicos preparados para a microscopia de luz eletrônica" (Weibel, 1979; Piedade, 2010).

Empregando-se regras simples de medições e contagens estereológicas, obtém-se informações sobre número, volume, comprimento e área de superfície das estruturas em imagens obtidas em microscópios. Estas medidas e contagens são feitas nos cortes, assumindo como base o perfil bidimensional dos componentes de interesse, pois, ao se analisar os parâmetros das estruturas observáveis em cortes dos

tecidos, podem-se extrapolar informações sobre as estruturas no espaço tridimensional (Piedade, 2010).

Oliveira (2013) afirma que as principais vantagens da EQ são: eficiência, simplicidade, validade e aplicabilidade ampla do método. Partindo do princípio que as propriedades dos materiais são influenciadas geralmente por sua estrutura que são, comumente, tridimensionais, opacas ou semitransparentes e microscópicas, evidenciando uma ampla complexidade em sua observação, as técnicas estereológicas se tornam de extrema importância, pois oferecem maneiras altamente eficientes de se estimar alguns parâmetros numéricos. Os parâmetros numéricos mais comuns em estudos estereológicos são: áreas, tamanhos, volumes, densidades e números de populações de um material sólido com seções planas (Esteves, 2011; Ferreira Filho, 2009; Moura, 2011; Padilha, 2007).

Entretanto, para realizar um estudo estereológico, é necessário definir a ferramenta adequada para detecção de informações na estrutura que se deseja estudar, sabendo que é necessário um conhecimento prévio tanto do objeto de estudo quanto dos métodos à disposição (Damaceno-Rodrigues, 2012).

Planos de cortes são utilizados como fonte de informação na caracterização das estruturas tridimensionais. Ao seccionar uma estrutura tridimensional, elementos volumosos aparecem como uma área bidimensional, enquanto elementos lineares surgem como pontos e elementos superficiais aparecem como linhas (Ferreira Filho, 2009). A Figura 2.3(a) mostra uma estrutura tridimensional sendo seccionada, enquanto a Figura 2.3(b) ilustra como estes elementos tridimensionais são vistos no plano de corte, que é bidimensional.

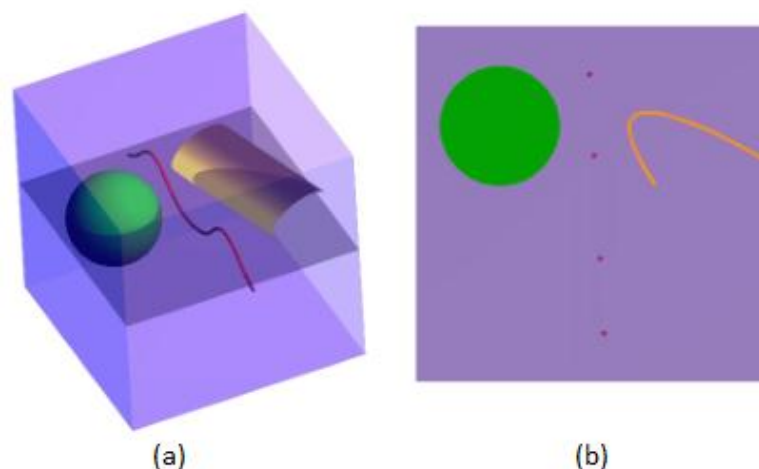


Figura 2.3 - (a) estrutura tridimensional sendo seccionada; (b) visualização dos diferentes elementos estruturais em um plano de corte (Da Silva, 2007).

Para que se possam realizar medições estereológicas, outras etapas devem ser executadas anteriormente. A influência destas etapas na qualidade dos resultados é cumulativa, pois os maus resultados em cada etapa anterior refletem em erros nas medições estereológicas (Da Silva, 2007). A Figura 2.4 exibe um fluxograma com a sequência de etapas que antecedem a medição. A descrição detalhada destas etapas pode ser vista em Borges (2016) e Da Silva (2007).

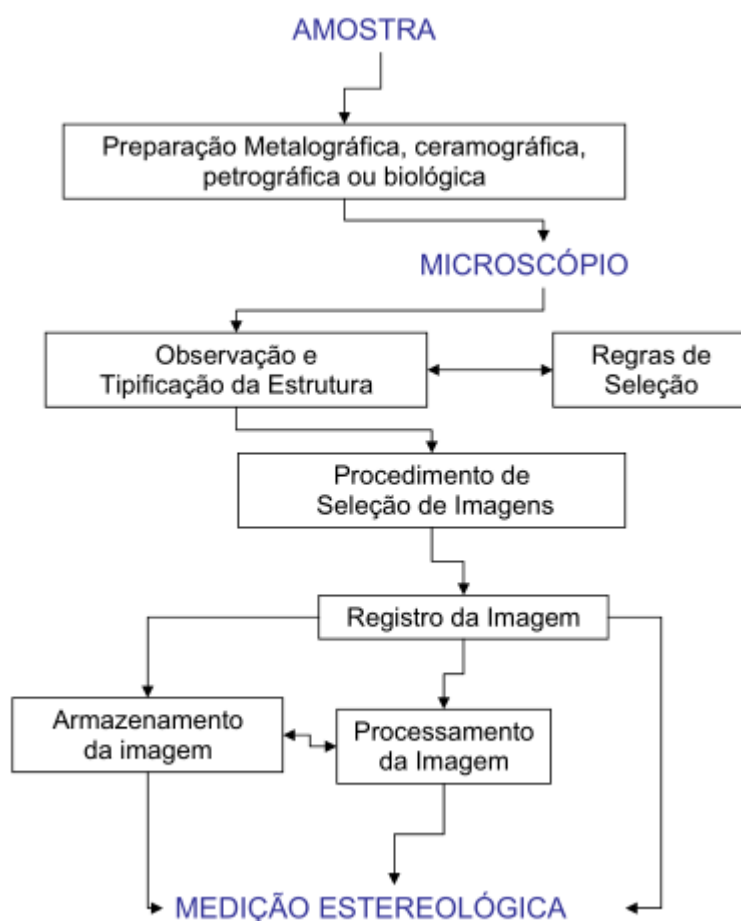


Figura 2.4 - Fluxograma das etapas de preparação e caracterização de imagens (Da Silva, 2007).

As medições estereológicas presentes no escopo deste trabalho são apresentadas nas seções 2.2.1, 2.2.2 e 2.2.3.

2.2.1 Fração volumétrica por fração de pontos

A fração volumétrica (V_V) pode ser considerada a mais conhecida e simples de ser realizada na análise estereológica. Esta medição pode ser determinada através de três métodos distintos, mas que produzem resultados equivalentes, sendo eles: fração de área (A_A), fração de pontos (P_P) e fração linear (L_L) (Da Silva, 2007; De

Moura, 2011; Mannheimer *et al.*, 2002; Pinheiro, 2008; Russ e Dehoff, 2000; Underwood, 1970).

Para este trabalho, dentre os três métodos de se encontrar a fração volumétrica, somente o que utiliza a fração de pontos foi implementado. Diante disto, somente a fração de pontos é discutida. É importante ressaltar que os três métodos são equivalentes e relacionados entre si.

Ao se considerar uma estrutura bifásica hipotética contida em um volume V cúbico, havendo grãos de fase α imersos em uma fase matriz β , a fração volumétrica da fase α em relação ao volume da estrutura é dada pela Equação (2.1) (Da Silva, 2007; Underwood, 1970; Padilha, 2007).

$$\frac{N_s}{n} = \frac{V_\alpha}{V} \quad \text{ou} \quad V_v = P_p \quad (2.1)$$

Em que, N_s é o somatório de pontos incidentes na fase α , N é o número total de pontos, V_α é o volume da fase α , V é o volume total, V_v representa a fração volumétrica e P_p a fração de pontos.

Na prática, para determinar P_p em uma seção de corte de V , inicialmente é necessário traçar uma grade de N pontos regularmente espaçados, ou aleatoriamente determinados sobre a imagem. O número de pontos utilizados depende do desvio que se deseja ter e a distância entre estes pontos não deve ser inferior ao tamanho característico da fase α (tamanho de grãos, por exemplo). Uma vez traçada a grade de pontos, procede-se a contagem de quantos dos pontos traçados estão sobre a fase α (N_s) e, dividindo N_s pelo número total de pontos, tem-se a fração volumétrica da fase α (Da Silva, 2007; Sales, 2013).

Ao se realizar este procedimento é comum que ocorram pontos na fronteira entre os grãos e a fase matriz, tocando nas duas fases. Neste caso, gera-se a dúvida sobre se este ponto deve ser considerado incidente na fase ou não. Para resolver o problema, quando se encontra um ponto de fronteira, considera-se peso de 0,5 diante da probabilidade deste ponto estar mais ou menos incidente na fase em estudo, enquanto que, para os demais casos, os pontos recebem peso 1,0.

O procedimento é demonstrado na Figura 2.5. Na Figura 2.5(a) se vê uma imagem de um plano de corte da estrutura de uma liga de metal duro WC-16%_{peso}Co

obtida em Da Silva (2007). Para que o processo fique mais claro, a imagem foi segmentada por binarização e negativa, deixando a região de interesse na cor preta. Após este processo foi traçada uma grade de pontos igualmente espaçados, totalizando 100 pontos. O resultado pode ser visto na Figura 2.5(b). Dos 100 pontos impressos na imagem, 51 incidiram sobre a fase α (preto) e 49 incidiram na fase matriz β (branco). Ao se aplicar a Equação (2.1) obtém-se o a fração volumétrica de 0,51. É importante salientar que a Figura 2.5(b) não possui pontos com peso 0,5, pois nenhum dos pontos da grade incidiu na fase α e β ao mesmo tempo.

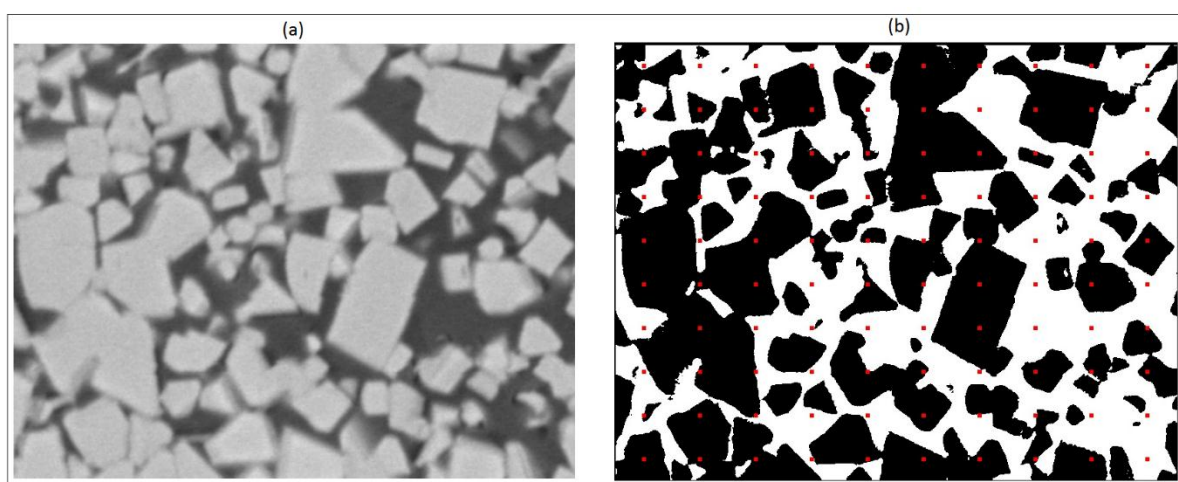


Figura 2.5 -Processo necessário para o cálculo da fração volumétrica por fração de pontos de um plano de corte da estrutura de uma liga de metal duro WC-16%_{peso}Co. (a) imagem original; (a) imagem segmentada e com uma malha de pontos vermelhos (Da Silva, 2007 adaptada).

2.2.2 Área superficial por unidade de volume teste

O cálculo da área superficial por unidade de volume-teste (S_V) pode ser feito por meio da Equação (2.2) (Da Silva, 2007; Mannheimer *et al.*, 2002; Murphy, 2004; Padilha, 2007; Underwood, 1970).

$$S_V = 2P_L \quad (2.2)$$

Em que P_L representa a quantidade de interseções da fase α por unidade de linha teste.

Na prática, para calcular a S_V , é necessário inserir uma malha de linhas igualmente espaçadas, as quais podem ser horizontais, verticais ou horizontais e verticais, formando linhas cruzadas. Posteriormente, deve-se realizar a contagem de quantas

vezes os contornos da fase α foram interceptados pelas linhas-teste da malha de linhas. Novamente, neste cálculo, pode gerar dúvida nos casos em que a linha-teste tangencie o contorno da fase α . Nestes casos procede-se da mesma forma como explicado na seção 2.2.1, computando peso 1,0 para os casos em que as linhas-teste interceptam diretamente o contorno da fase α , enquanto que as linhas-teste que tangenciam este contorno recebem peso 0,5. É importante lembrar que este problema ocorre somente em contagem manual (Sales, 2014; Da Silva, 2007).

A razão entre o somatório destes valores e a soma do comprimento total das linhas-teste é a P_L , enquanto a S_v é encontrada multiplicando P_L por dois, conforme mostra a Equação (2.2) (Da Silva, 2007; Mannheimer *et al.*, 2002; Murphy, 2004; Padiha, 2007; Underwood, 1970).

A Figura 2.6 ilustra o procedimento de cálculo da área superficial por unidade de volume teste. Para este processo, foi utilizada a imagem exposta na Figura 2.5(a), que foi segmentada e submetida a uma malha de 10 linhas horizontais. Todos os pontos em que as linhas horizontais interceptam os contornos da fase α (preto) foram contados e destacados com pontos vermelhos, totalizando 207 interceptos. Para se obter a área superficial por unidade de volume teste deve-se dividir este somatório (207) pelo comprimento total das linhas traçadas (P_L) e multiplicar este valor por 2 (S_v).

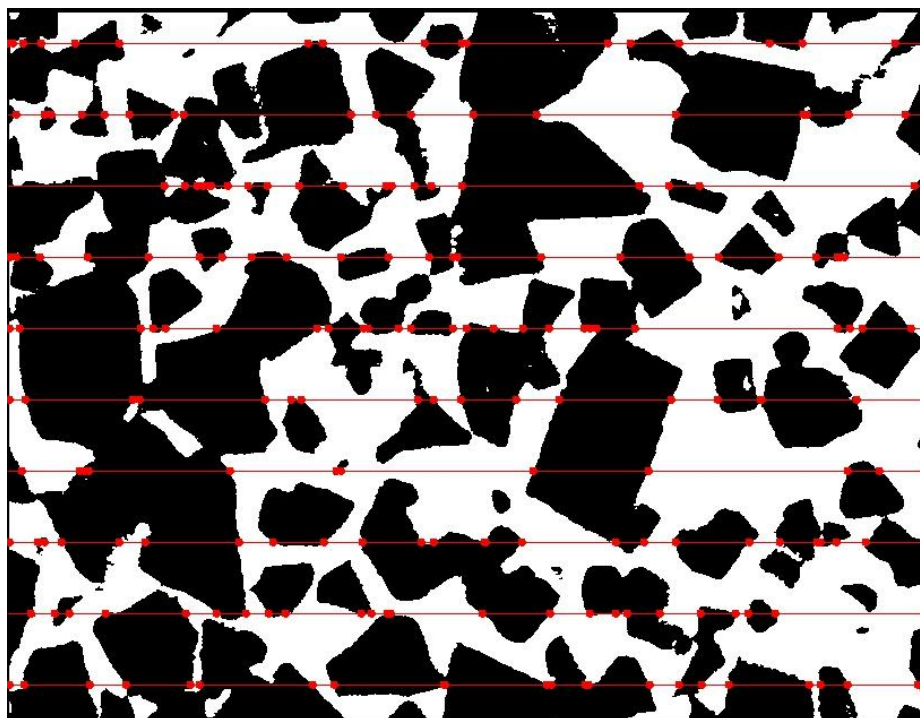


Figura 2.6 - Cálculo da área superficial por unidade de volume teste (Da Silva, 2007 adaptada).

2.2.3 Comprimento por unidade de volume teste

Este recurso mede o comprimento de objetos lineares presentes em uma estrutura por unidade de volume desta estrutura, determinando a área de interface entre as duas fases. A Equação (2.3) apresenta o cálculo do comprimento por unidade de volume teste (Da Silva, 2007).

$$L_V = 2P_A \quad (2.3)$$

Em que P_A é a quantidade de pontos encontrados na imagem sobre a área total.

Na prática, um plano (ou diversos planos aleatórios) é selecionado e imagens são registradas. As interseções deste plano com a linha formam pontos na imagem. Determina-se a área em que estes pontos são contados e contam-se os pontos. O valor de P_A é determinado dividindo o resultado da contagem dos pontos com a área da região.

A Figura 2.7 mostra o procedimento de cálculo do comprimento por unidade de volume teste. Nela, uma seção de corte hipotética de um plano contendo um ou mais elementos lineares é representada. Em uma seção de corte feita perpendicularmente à direção em que se encontra o elemento linear, as interseções entre esta seção e o elemento aparecem como pontos. Na Figura 2.7 estes estão marcados e contados, totalizando 12 pontos. Aplicando a Equação (2.3), encontra-se o valor de $0,04\text{mm}^2$ para o comprimento por unidade de volume teste.

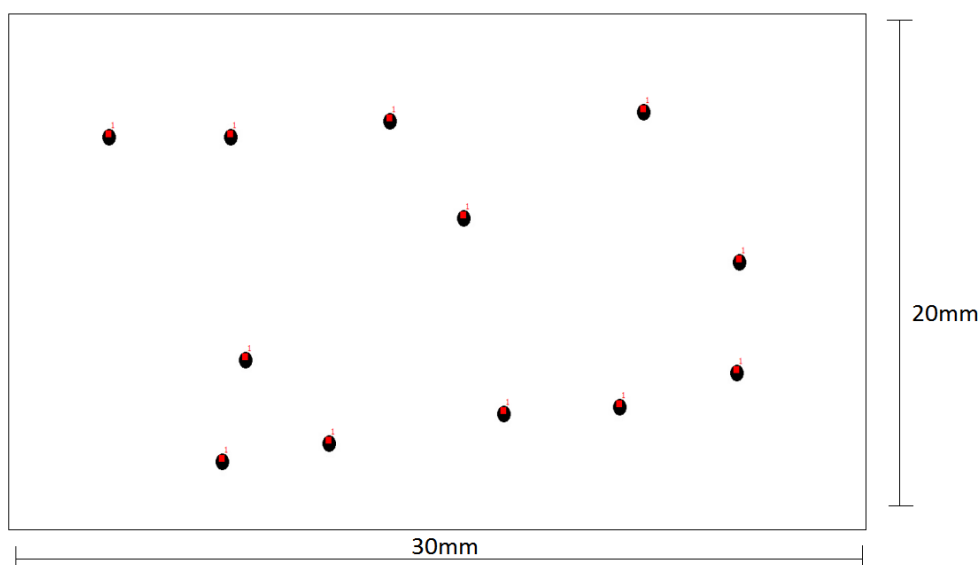


Figura 2.7 - Cálculo do comprimento por unidade de volume teste.

2.3 Processamento Digital de Imagens

Aydemir *et al.* (2004) descrevem o processamento digital de imagens (PDI) como uma extensão da observação visual, extraindo de uma imagem informações qualitativas e quantitativas acerca de uma determinada amostra. A área de processamento de imagens vem ganhando crescente interesse por viabilizar grande número de aplicações no aprimoramento de informações em imagens para posterior investigação e na análise automática de informações em imagens.

O uso de PDI para o aprimoramento e análise de imagens teve início no *Jet Propulsion Laboratory* (Pasadena, Califórnia - EUA) em 1964, quando imagens da lua transmitidas por uma sonda eram processadas por computador para corrigir vários tipos de distorção, os quais eram inerentes à câmera de TV acoplada à sonda. Estas técnicas serviram de base para métodos aprimorados de realce e restauração de imagens de outros programas espaciais posteriores, como por exemplo, as expedições tripuladas da série Apollo (Marques Filho e Vieira Neto, 1999).

Entretanto, algumas décadas após o início dos estudos com processamento digital de imagens, começaram a surgir computadores de grande porte, com maior poder de processamento e armazenamento, além de possuírem ambientes gráficos mais robustos, o que representou grande impulso para a área e trouxe novas oportunidades de aplicações. Atualmente, técnicas de PDI são utilizadas nas mais diversas áreas do conhecimento, tais como: Medicina; Astronomia; Geografia; Biologia; Indústria; Arqueologia; Física; Engenharias; e outras (Gonzales e Woods, 2002).

Conforme Gonzalez e Woods (2000), um sistema de PDI é dividido em cinco etapas de execução:

1. **Aquisição de imagens:** consiste em obter a imagem através de um dispositivo de captura que em seguida digitaliza a imagem;
2. **Pré-processamento:** busca melhorar a qualidade da imagem através da redução de ruídos ou aberrações e ajustes de brilho e contraste, reforçando o contorno dos objetos da imagem, retirando regiões ou tonalidades não desejadas ou então reduzindo distorções;
3. **Segmentação:** consiste em identificar e isolar as regiões de interesse na imagem digital;
4. **Representação e descrição:** fase em que os dados obtidos são traduzidos para algum padrão previamente definido para que possam ser tratados pelo computador;

5. **Reconhecimento e interpretação:** Reconhecer e interpretar os padrões importantes para o objetivo do estudo.

Gonzalez e Woods (2002) reforçam ainda que o campo de processamento digital de imagens permite ir além das atividades humanas, uma vez que é possível empregar estes métodos em outras tecnologias de captura de imagens, não se limitando ao espectro visível das ondas eletromagnéticas, podendo varrer quase todo o espectro, desde ondas gama, até ondas de rádio.

2.3.1 Imagem digital

Uma imagem pode ser representada por uma função bidimensional $Z = F(x, y)$ definida em uma determinada região de um plano. Um conjunto de valores, em que cada valor é um número que descreve os atributos de um pixel, forma a imagem em um plano de duas dimensões (Paula Filho *et al.*, 2010). Dias (2015) salienta que existem vários tipos de representação digital de imagens. Na representação conhecida como “escala de cinzas”, a intensidade de brilho varia de acordo com o “*bit depth*” adotado, por exemplo, para uma imagem de oito bits, trabalha-se com 256 níveis de cinza, variando entre 0 e 255.

Uma imagem digital pode ser descrita como uma função $f(x,y)$ da intensidade luminosa, sendo seu valor, em qualquer ponto de coordenadas espaciais (x,y) , proporcional ao brilho (ou nível de cinza) da imagem naquele ponto (Gonzales e Woods, 2002). A Figura 2.8 mostra uma imagem monocromática e a convenção descrita.



Figura 2.8 - Imagem digital com as referências aos eixos x e y (Nogueira, 2013)

Para imagens coloridas, como por exemplo, no formato RGB, é necessário que tenham informações em intervalos ou bandas distintas de frequência, desta forma, utiliza-se uma função $f(x,y)$ para cada banda. As imagens coloridas padrão RGB, são formadas pela junção das cores vermelho (R – *Red*), verde (G - *Green*) e azul (B - *Blue*) (Solomon e Breckon, 2011).

O modelo de representação RGB também é conhecido como “*true color*”. Nele, cada pixel é representado por três intensidades, de oito bits cada (como na escala de cinza), com valores no intervalo $[0,255]$, representando as intensidades de vermelho, verde e azul. Estas intensidades combinadas podem representar 16 milhões de cores, proporcionando uma imagem muito próxima à realidade. Neste modelo, o valor $(0, 0, 0)$ representa a ausência de cores (o preto), e o valor $(255,255,255)$ representa a combinação das três cores no nível mais elevado de brilho, formando a cor branca. Esta é a representação utilizada por computadores e dispositivos de exibição (monitores) e indústria fotográfica (Dias, 2015).

2.3.1.1 Vizinhança

Uma grande variedade de técnicas de tratamento e segmentação de imagens digitais usam a vizinhança dos pixels para melhorar a imagem. Conforme Marques Filho e Vieira Neto (1999), um pixel p , de coordenadas (x,y) , tem 4 vizinhos horizontais e verticais, cujas coordenadas são $(x+1, y)$, $(x-1, y)$, $(x, y+1)$ e $(x, y-1)$. Estes pixels formam a chamada “4-vizinhança” de p , designada $N4(p)$. Os quatro vizinhos diagonais de p são os pixels de coordenadas $(x-1, y-1)$, $(x-1, y+1)$, $(x+1, y-1)$ e $(x+1, y+1)$, que constituem o conjunto $Nd(p)$. A “8-vizinhança” de p , chamada de $N8(p)$ é definida como a união de $N4(p)$ com $Nd(p)$, que consiste em todos os pixels ao redor de um determinado pixel p de referência. Os três tipos de vizinhança estão ilustrados na Figura 2.9.

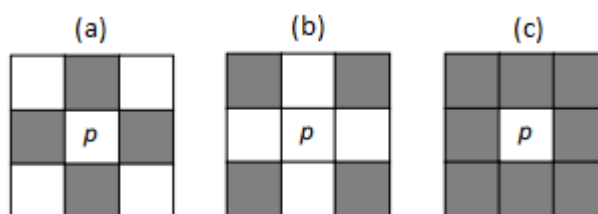


Figura 2.9 - vizinhança dos pixels: (a) $N4(p)$; (b) $Nd(p)$; (c) $N8(p)$. Adaptada de Marques Filho e Vieira Neto (1999).

2.3.2 Operações com histograma

O histograma de uma imagem é simplesmente um conjunto de números indicando a quantidade de pixels naquela imagem que apresentam cada nível de cinza. Estes valores são normalmente representados por um gráfico de barras que mostra a frequência relativa da ocorrência das intensidades que um pixel pode assumir na imagem. A Figura 2.10 apresenta exemplos de duas imagens e seus respectivos histogramas.

2.3.2.1 Equalização do histograma

A equalização do histograma é uma técnica a partir da qual se procura redistribuir os valores de tons de cinza dos pixels em uma imagem, de modo a obter um histograma uniforme, no qual o número (percentual) de pixels de qualquer nível de cinza fica mais homogêneo. Para tanto, utiliza-se uma função auxiliar, denominada função de transformação. A forma mais usual de se equalizar um histograma é utilizar a função de distribuição acumulada (CDF – *cumulative distribution function*) da distribuição de probabilidades original, que pode ser expressa pela Equação (2.4), expressa em Gonzalez e Woods (2002).

$$S_k = T(r_k) = \sum_{j=0}^k \frac{n_j}{n} = \sum_{j=0}^k p_r(r_j) \quad (2.4)$$

Em que:

$$0 \leq r_k \leq 1;$$

$$k = 0, 1, \dots, L-1.$$

A Figura 2.10 apresenta uma imagem antes e depois de ser equalizada com seus respectivos histogramas. Nota-se que, após realizar o processo de equalização, o histograma se apresenta consideravelmente mais uniforme.

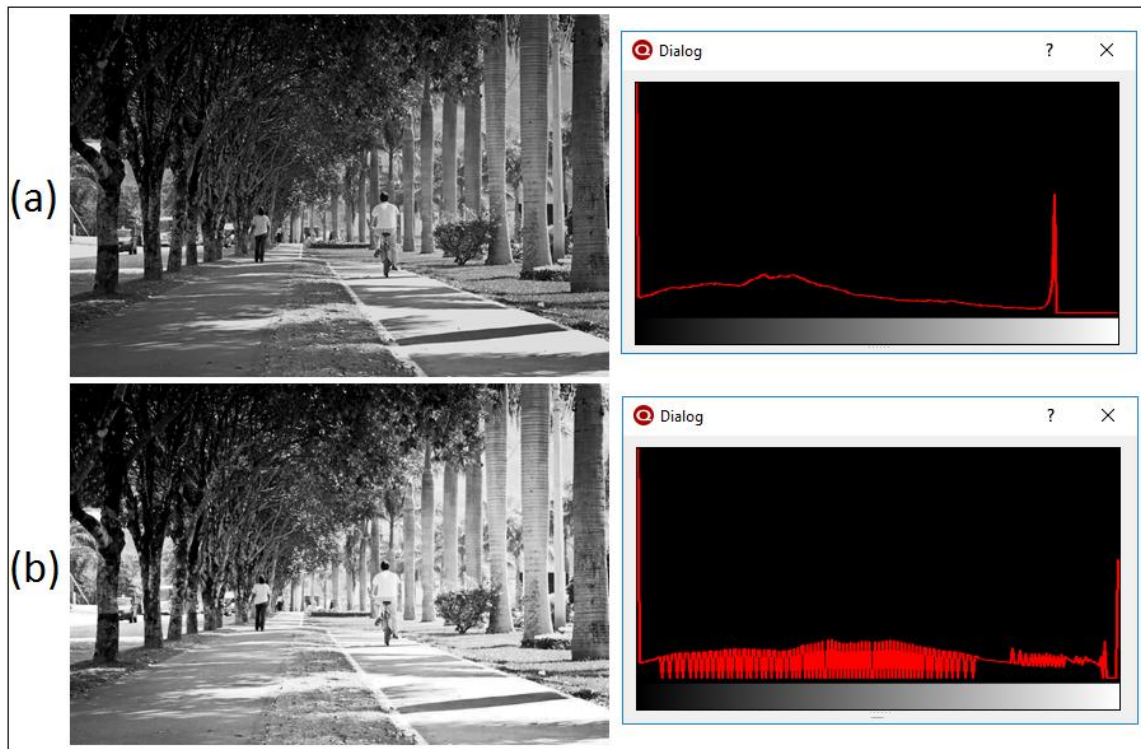


Figura 2.10 - Processo de equalização do histograma. (a) imagem original com seu respectivo histograma; (b) imagem equalizada com seu respectivo histograma.

2.3.3 Técnicas de transformações de imagens

2.3.3.1 Brilho

O valor de $f(x,y)$ em qualquer par de coordenadas é chamado de intensidade da cor, ou no caso das escalas de cinza, o brilho naquele ponto. Esta notação é utilizada para representar a intensidade luz que um determinado objeto transmite. Uma imagem constituída por maioria de pixels com baixas tonalidades de cinza fica escura e é considerada como uma imagem de baixo nível de brilho. Enquanto que uma imagem composta por pixels em maioria com altas tonalidades de cinza é mais clara, ou seja, com muito brilho (Gomes, 2001; Henriques e Cruz, 2014; 999; Traina e Oliveira, 2006).

O brilho de uma imagem é definido por meio da média das tonalidades de cinza dos seus pixels e pode ser descrito através da Equação (2.5). (Gomes, 2001; Henriques e Cruz, 2014; Traina e Oliveira, 2006).

$$B = \frac{1}{n} \sum_{y=0}^{Y-1} \sum_{x=0}^{X-1} f(x,y) \quad (2.5)$$

A Figura 2.11(a) apresenta uma imagem com alto nível de brilho, na Figura 2.11(b) se vê a imagem original e, na Figura 2.11(c), a mesma imagem com baixo nível de brilho.

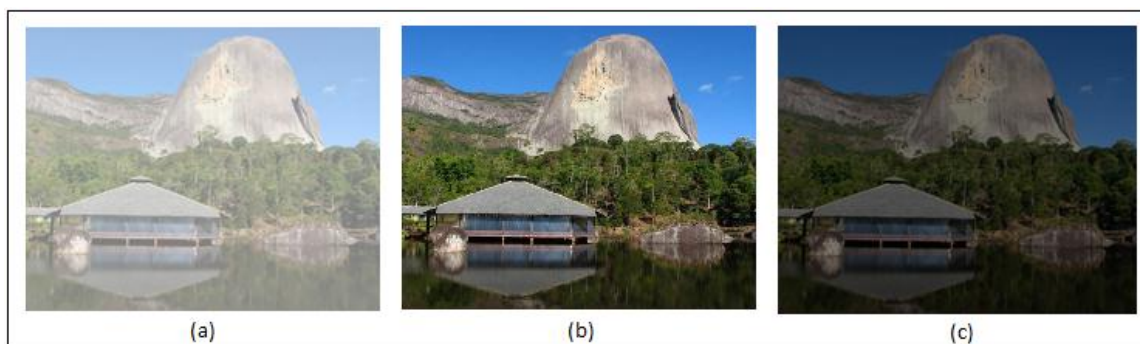


Figura 2.11 – Operação de brilho em uma imagem. Alto nível de brilho (a); imagem original (b); baixo nível de brilho (c).

2.3.3.2 Contraste

Uma técnica conhecida de melhoramento de imagens é aumentar seu contraste para que se possa “ver melhor” esta imagem (Gonzales e Woods, 2002). O contraste entre dois objetos pode ser definido como a razão entre os seus níveis de cinza médios, ou seja, quanto mais distribuídos estiverem as intensidades dos pixels no histograma, maior será o contraste daquela imagem. A Figura 2.12 apresenta um exemplo de modificação de contraste em uma imagem. A Figura 2.12(a) exibe a imagem com baixo nível de contraste, a Figura 2.12(b) exibe a imagem original, enquanto a Figura 2.12 (c) ilustra a imagem com o contraste ampliado.

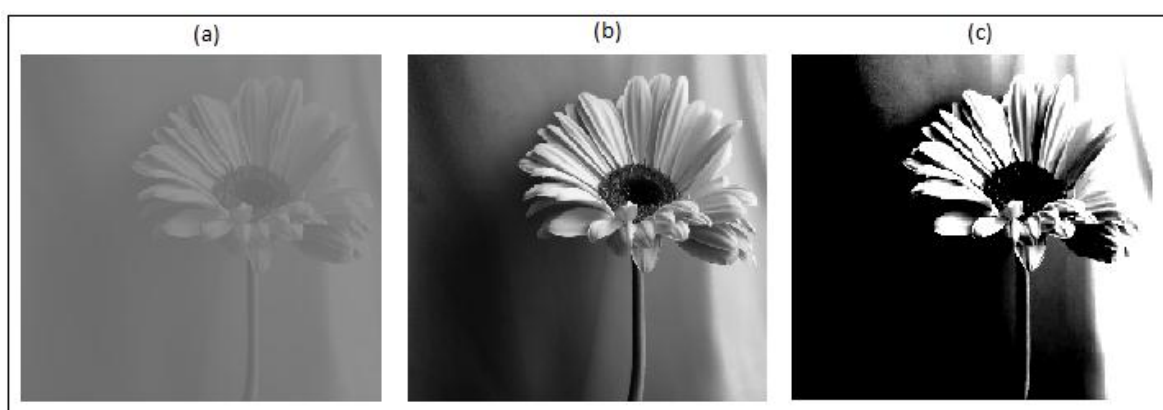


Figura 2.12 - Operação de contraste em uma imagem. Baixo nível de contraste (a); imagem original (b); alto nível de contraste (c).

A Figura 2.13 exibe dois histogramas, um deles com a maioria dos pixels concentrada em uma estreita faixa da escala de cinza, significando baixo contraste (Figura 2.13(a)), enquanto o outro (Figura 2.13(b)) corresponde a uma imagem com pixels distribuídos ao longo de toda a escala de cinza, o que representa um nível de contraste mais elevado.

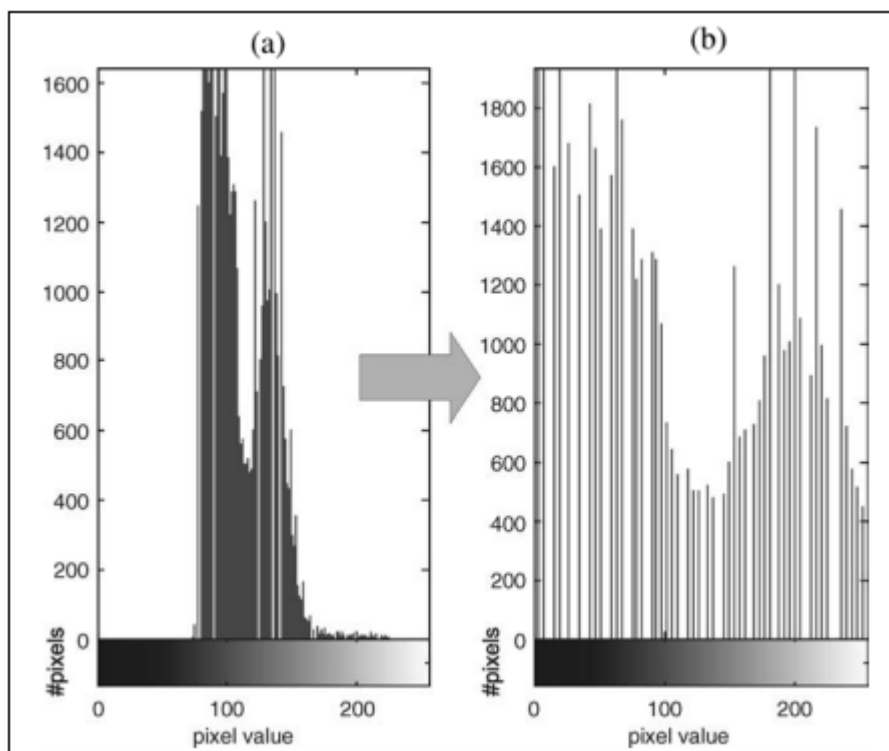


Figura 2.13 - Exemplos de histograma com diferentes níveis de contraste. (a) histograma com baixo contraste; (b) histograma com alto contraste (Solomon e Breckon, 2011).

2.3.4 Operações lógicas e aritméticas

Após uma imagem ter sido adquirida e digitalizada, ela pode ser vista como uma matriz de números inteiros, permitindo que seja manipulada numericamente utilizando operações lógicas e/ou aritméticas. Estas operações normalmente são executadas pixel a pixel. A Equação (2.6) descreve este tipo de operação (Marques Filho e Vieira Neto, 1999):

$$X \text{ opn } Y = Z \quad (2.6)$$

Em que X e Y podem ser imagens (matrizes) ou escalares, Z é obrigatoriamente a matriz resultante e opn é um operador aritmético (+, -, x e /) ou lógico (*AND*, *OR*, *XOR* ou *NOT*).

Desde que duas imagens sejam do mesmo tamanho, elas podem ser processadas pixel a pixel utilizando um operador aritmético ou lógico. Este processo irá produzir uma terceira imagem, cujos pixels correspondem ao resultado da respectiva operação para cada elemento das imagens de origem.

Ao se executar operações aritméticas sobre imagens, deve-se ficar atento aos problemas conhecidos como *underflow* (pixels com valores negativos) ou *overflow* (pixels com valores acima do limite da imagem). A subtração de duas imagens pode resultar em valores negativos para alguns elementos (*underflow*), da mesma forma que a adição de duas imagens de 256 tons de cinza, por exemplo, pode resultar em um número maior que 255 para alguns pixels (*overflow*). Para contornar estes problemas, existem basicamente duas alternativas: (1) manter os resultados intermediários em uma matriz na qual o espaço em memória alocado para cada pixel permita a representação de números negativos e/ou maiores que 255 e em seguida proceder a uma normalização destes valores intermediários; (2) truncar os valores maiores que o máximo valor permitido, bem como os valores negativos, igualando-os a 255 e 0, respectivamente. A decisão depende do objetivo que se tem em mente ao executar determinada operação. Claramente a segunda alternativa é mais simples que a primeira (Marques Filho e Vieira Neto, 1999).

2.3.5 Segmentação

De acordo com Belaid e Mourou (2009), a segmentação é uma das mais importantes etapas existentes no processamento de imagens e de Visão Artificial. Seu objetivo é separar as regiões que compõem uma imagem para que seja possível a extração de características desta imagem que são consideradas importantes. Regiões espacialmente diferentes, em uma mesma imagem, podem possuir nível de cinza semelhante, o que as caracteriza como áreas com características em comum. Portanto, a segmentação consiste em atribuir um rótulo a cada pixel da imagem, identificando-o a qual região ele pertence (Albuquerque, *et al.*, 2007; Heidjen, 1994).

Esquef (2002) descreve a segmentação como o processo de separar a imagem como um todo nas partes que a constituem e que se diferenciam entre si, reforçando que esta etapa é considerada a mais crítica de todo o PDI. É na etapa de segmentação que são definidas as regiões de interesse para processamento e análise posteriores. Como consequência deste fato, quaisquer erros ou distorções que tenham ocorrido

nesta etapa influenciam diretamente a eficiência e eficácia das outras etapas, podendo produzir, ao final do processo, resultados não desejados.

Não existe um modelo formal para a segmentação de imagens, pois trata-se de um processo empírico e adaptativo, procurando sempre se adequar às características particulares de cada tipo de imagem e aos objetivos que se pretende alcançar. Apesar de existir uma grande diversidade de técnicas de segmentação de imagens, ainda assim, devido a sua importância e complexidade, existe grande interesse no estudo e desenvolvimento de novas técnicas (Esquef, 2002).

O nível de detalhamento em um processo de segmentação depende fortemente da tarefa a ser executada e da resolução da imagem que se tem. Quando se deseja destacar uma casa em uma imagem obtida do nível da rua, procura-se por regiões que ocupam grande parte da imagem (regiões grandes), entretanto, ao se destacar casas a partir de imagens de satélite, as regiões são pequenas. Embora a tarefa seja a mesma, as características das imagens são diferentes, afetando diretamente no tratamento a ser realizado, podendo demandar técnicas diferentes de segmentação.

Os algoritmos de segmentação baseiam-se em propriedade de descontinuidade e similaridade dos valores de nível de cinza de uma imagem para dividi-la. A descontinuidade divide uma imagem em relação as suas mudanças abruptas dos níveis de cinza com detecção de pontos isolados, linhas e bordas da imagem. Já a similaridade agrupa os diferentes níveis de cinza utilizando: limiarização, crescimento de regiões, divisão e fusão de regiões (Beucher e Meyer, 2002; Gonzalez e Woods, 2000; Gonzalez *et al.* 2004).

2.3.5.1 Convolução

Inúmeras operações úteis em processamento de imagens são efetuadas a partir de um mesmo conceito básico, o de convolução com máscaras (Brakski e Kaehler, 2008; Gonzalez e Woods, 2000). Este conceito consiste em uma operação de substituição dos valores dos pixels baseados nos seus vizinhos e na aplicação da translação de uma matriz chamada máscara, que, por sua vez, é uma matriz fixa de coeficientes numéricos com um ponto âncora, normalmente situado no centro da matriz.

As operações de convolução são comumente chamadas de filtros e são muito utilizadas para a suavização e retirada de ruídos, detecção de bordas, linhas e pontos, entre outros. O resultado da convolução pode ser definido pela Equação (2.7) (Brakski e Kaehler, 2008)

$$H(x, y) = \sum_{i=0}^{M_i-1} \sum_{j=0}^{M_j-1} I(x+i-a_i, y+j-a_j)G(i, j) \quad (2.7)$$

Em que $I(x, y)$ é definido como a matriz da imagem original que irá passar pelo processo, a máscara é representada pela matriz $G(i, j)$ ($0 < i < M_i - 1$ e $0 < j < M_j - 1$), o ponto âncora é (a_i, a_j) e a imagem resultante é $H(i, j)$.

2.3.5.2 Suavização de imagens

Os denominados filtros de passa-baixa atenuam ou eliminam os componentes de alta frequência no domínio de Fourier, deixando as frequências baixas inalteradas. Os componentes de alta frequência caracterizam bordas e outros detalhes finos de uma imagem, de forma que o efeito resultante da filtragem passa-baixa é o borramento da imagem. Este efeito é muito utilizado na etapa de pré-processamento para a remoção de pequenos detalhes de uma imagem antes da extração de objetos e para a conexão de pequenas discontinuidades em linhas e curvas (Gonzalez e Woods, 2000).

2.3.5.2.1 Filtro Média

No filtro Média, o gradiente de cada pixel é substituído pela média dos níveis de gradiente da sua vizinhança, de acordo com o tamanho de sua máscara. Este filtro é aplicado no borramento da imagem e diminuição de ruídos e, claramente, quanto maior for a máscara aplicada, maior será a influência dos vizinhos sobre aquele pixel.

A Figura 2.14 mostra a aplicação do filtro Média em um pixel de uma imagem. A matriz selecionada - Figura 2.14(a) - representa um recorte de uma imagem qualquer em tons de cinza, que possui um pixel central com valor consideravelmente menor que os seus vizinhos. Ao se aplicar um filtro média 3x3, é feita a média entre o pixel que será alterado e seus 8 vizinhos, o resultado desta média substituirá o devido pixel, como pode ser visto na Figura 2.14(b).

<p>(a)</p> <table border="1" style="margin: auto;"> <tr><td>244</td><td>247</td><td>245</td></tr> <tr><td>252</td><td>12</td><td>225</td></tr> <tr><td>198</td><td>252</td><td>230</td></tr> </table> <p>Parte da imagem em 256 tons de cinza</p>	244	247	245	252	12	225	198	252	230	<p>(b)</p> <table border="1" style="margin: auto;"> <tr><td>244</td><td>247</td><td>245</td></tr> <tr><td>252</td><td>212</td><td>225</td></tr> <tr><td>198</td><td>252</td><td>230</td></tr> </table> <p>Filtro média 3x3 aplicado ao pixel central</p>	244	247	245	252	212	225	198	252	230
244	247	245																	
252	12	225																	
198	252	230																	
244	247	245																	
252	212	225																	
198	252	230																	

Figura 2.14 - Aplicação do filtro Média. (a) parte da imagem original em 256 tons de cinza; (b) resultado da aplicação do filtro média no pixel central.

A Figura 2.15 exibe uma imagem antes e depois de ser aplicado o filtro média com máscaras 3x3, 5x5, 7x7 e 9x9. Nota-se que, quanto maior a máscara utilizada, maior é o efeito sobre a imagem.

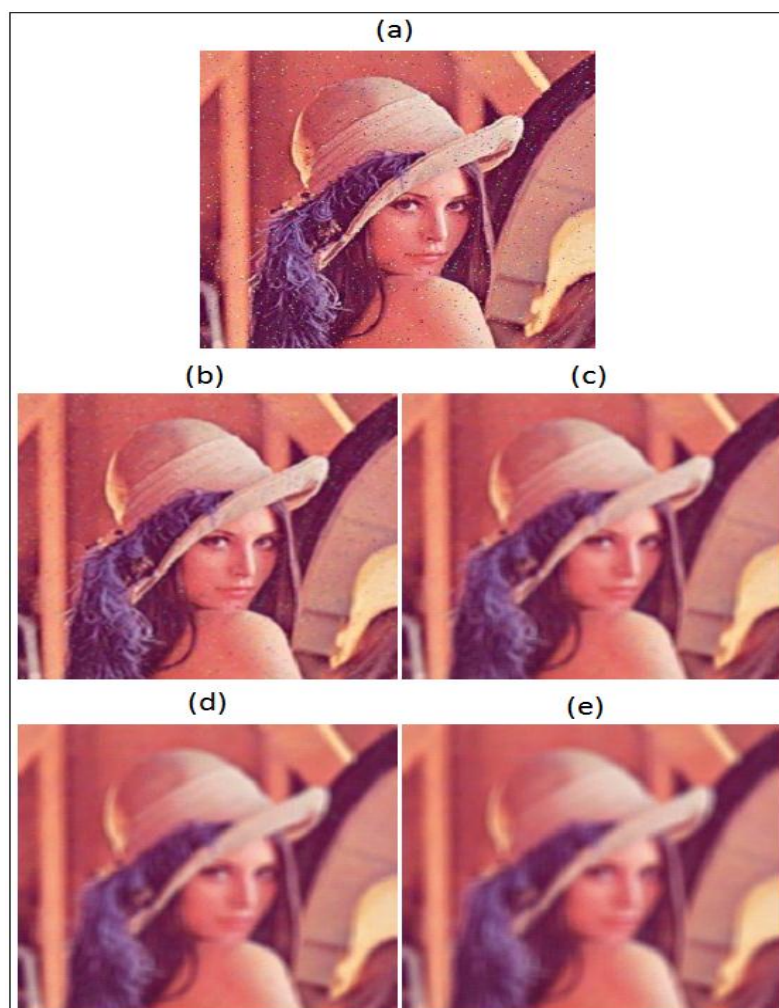


Figura 2.15 - Aplicação do filtro média; (a) Imagem original;(b) filtro com máscara 3x3; (c) filtro com máscara 5x5; (d) filtro com máscara 7x7; (e) filtro com máscara 9x9.

2.3.5.2.2 Filtro Mediana

No filtro Mediana, o gradiente de cada pixel é substituído pela mediana dos níveis de gradiente da sua vizinhança, de acordo com o tamanho de sua máscara. Este método é indicado para os casos onde se procura alcançar maior redução de ruídos com menor borramento da imagem, preservando a agudeza das bordas (Solomon e Breckon, 2011).

A Figura 2.16 exibe uma imagem antes e depois de ser aplicado o filtro mediana com máscaras 3x3, 5x5, 7x7 e 9x9.



Figura 2.16 - Aplicação do filtro mediana; (a) Imagem original;(b) filtro com máscara 3x3; (c) filtro com máscara 5x5; (d) filtro com máscara 7x7; (e) filtro com máscara 9x9.

A Figura 2.17 mostra a aplicação do filtro Mediana em um pixel de uma imagem. A matriz selecionada - Figura 2.17(a) - representa um recorte de uma imagem qualquer em tons de cinza. Ao se aplicar um filtro mediana com máscara de 3x3, os valores são ordenados e sua mediana é selecionada para substituir o devido pixel, como pode ser visto na Figura 2.17(b).

<p>(a)</p> <table border="1" style="margin: auto;"> <tr><td>10</td><td>20</td><td>18</td></tr> <tr><td>20</td><td style="background-color: #cccccc;">15</td><td>20</td></tr> <tr><td>25</td><td>25</td><td>100</td></tr> </table> <p>Parte da imagem em 256 tons de cinza</p>	10	20	18	20	15	20	25	25	100	<p>(b)</p> <table border="1" style="margin: auto;"> <tr><td>10</td><td>20</td><td>18</td></tr> <tr><td>20</td><td style="background-color: #cccccc;">20</td><td>20</td></tr> <tr><td>25</td><td>25</td><td>100</td></tr> </table> <p>Filtro mediana 3x3 aplicado ao pixel central</p>	10	20	18	20	20	20	25	25	100
10	20	18																	
20	15	20																	
25	25	100																	
10	20	18																	
20	20	20																	
25	25	100																	

Figura 2.17 - Aplicação do filtro Mediana. (a) parte da imagem original em 256 tons de cinza; (b) resultado da aplicação do filtro mediana no pixel central.

2.3.5.2.3 Gaussiana

Assim como os filtros média e mediana, o filtro gaussiano é utilizado para borrar ou desfocar a imagem na qual ele é aplicado, resultando na suavização da imagem e redução dos seus possíveis ruídos. A suavização gaussiana é largamente utilizada no estágio de pré-processamento da imagem a fim de enaltecer a estrutura da imagem em diferentes escalas (Jesus e Costa Junior, 2015; Trucco e Verri, 1998).

Matematicamente, a aplicação do filtro gaussiano é realizada da mesma forma que a convolução da imagem com uma função gaussiana, como um filtro de média simples. Esta função expressa a distribuição normal em estatística utilizada para definir a curva gaussiana de uma dimensão (Freitas Filho, 2008). Como uma imagem é definida em duas dimensões, a função gaussiana utilizada no filtro gaussiano também deve ser definida em duas dimensões, uma dimensão em X e outra dimensão em Y. Isto é obtido multiplicando-se a função gaussiana definida em X pela mesma função definida em Y, obtendo-se assim, a Equação (2.8) (Jesus e Costa Junior, 2015).

$$G(x, y) = G(x) \cdot G(y)^t = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}} \quad (2.8)$$

A aplicação da equação (2.8), atribuindo-se os valores de x, y e desvio padrão (σ), resulta na matriz a ser utilizada como máscara no processo de convolução para aplicação do filtro. A Figura 2.18 exibe uma imagem antes e depois de ser aplicado o filtro Gaussiano com máscaras 3x3, 5x5, 7x7 e 9x9.



Figura 2.18 - Aplicação do filtro Gaussiano; (a) Imagem original;(b) resultado do filtro com máscara 3x3; (c) resultado do filtro com máscara 5x5; (d) resultado do filtro com máscara 7x7; (e) resultado do filtro com máscara 9x9.

2.3.5.3 Detecção de bordas

Uma borda em uma imagem é definida por uma mudança, na maioria das vezes abrupta, no nível de intensidade dos pixels. Os algoritmos de detecção de borda objetivam encontrar este tipo de variação nos pixels e, quando estão próximos, eles podem ser conectados formando uma borda ou um contorno, definindo assim uma região ou objeto (Solomon e Breckon, 2011).

O tema “detecção de bordas” (*edge detection*) vem desafiando os pesquisadores da área de Processamento de Imagens há muitos anos e, com o intuito de melhorar a qualidade dos resultados, novas técnicas continuam sendo estudadas. Define-se borda (*edge*) como a fronteira entre duas regiões distintas, cujos níveis de brilho predominantes são razoavelmente diferentes. Pratt (1991) define uma borda de luminosidade como uma descontinuidade na luminosidade de uma imagem.

2.3.5.3.1 Sobel

Um dos métodos de convolução mais comuns é a derivada de Sobel, este método calcula o gradiente da intensidade em cada ponto, dando a direção da maior variação de claro para escuro, permitindo assim a detecção das bordas. A derivada de Sobel possui a vantagem de poder ser definida por máscaras de qualquer tamanho, além de fornecer, ao mesmo tempo, efeitos de diferenciação e suavização (Gonzalez e Woods, 2000; Brakski e Kaehler, 2008).

Este operador utiliza duas máscaras de dimensões denominadas G_x e G_y , as quais obtêm a variação dos gradientes na horizontal e na vertical, respectivamente. Considerando que os pixels mais próximos do centro devem apresentar maior influência sobre o gradiente no ponto, as máscaras do operador de Sobel são definidas com pesos da região central e são apresentadas na Figura 2.19 (Gonzalez e Woods, 2002; Ercolin, Filho, 2007).

(a) G_x			(b) G_y		
-1	0	1	1	2	1
-2	0	2	0	0	0
-1	0	1	-1	-2	-1

Figura 2.19 - Máscaras do operador de Sobel 3x3. (a) Operador horizontal (G_x); (b) Operador vertical (G_y) (Gonzalez e Woods, 2002).

A Figura 2.20 mostra a aplicação do filtro Sobel em uma imagem em três etapas. Na Figura 2.20(a) se vê a imagem original, a Figura 2.20(b) mostra a aplicação do filtro com a máscara presente na Figura 2.19(a) (G_x), nota-se, claramente, que as bordas horizontais são marcadas de forma mais forte. A Figura 2.20(c) mostra a aplicação do filtro com a máscara presente na Figura 2.19(b) (G_y), desta vez, as bordas

mais fortes são as verticais. Finalmente, na Figura 2.20(d), se vê o resultado da aplicação dos dois conjuntos (G_x e G_y), em que grande parte das bordas verticais e horizontais são detectadas pela operação.

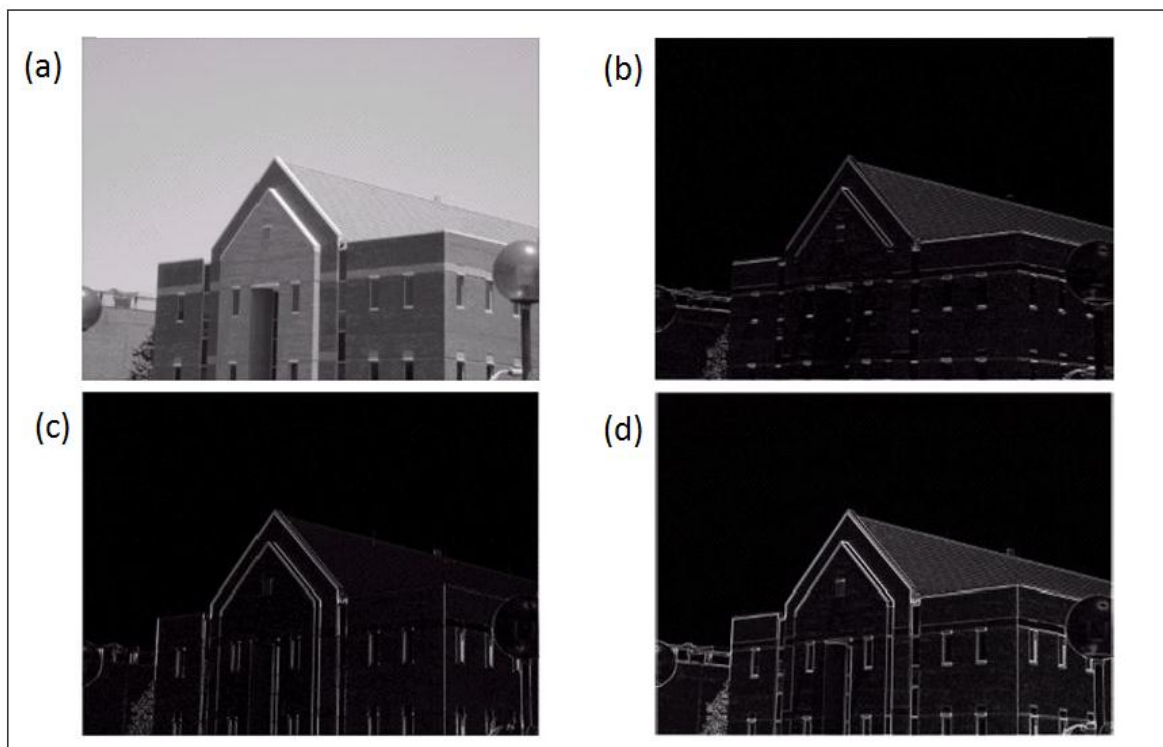


Figura 2.20 - imagem original em tom de cinza (a); imagem após executar o filtro sobel com máscara 3x3 (b) (Gonzalez e Woods, 2002).

2.3.5.3.2 Laplaciano

O filtro Laplaciano consiste em uma medida isotrópica bidimensional da derivada de segunda ordem de uma imagem. Sua aplicação realça regiões de rápida variação de intensidade tornando-o útil para a detecção de bordas. Embora seja insensível à rotação e, portanto, capaz de realçar ou detectar bordas em qualquer direção, seu uso acaba sendo restrito devido à grande suscetibilidade a ruído (Dias *et al.*, 2011; Neves e Pelaes, 2001).

Como este operador é muito sensível a ruídos é comum aplicar primeiramente um filtro de suavização Gaussiano. É bastante usual aplicar o filtro Laplaciano associado ao filtro Gaussiano através de uma operação de convolução, gerando um filtro híbrido chamado Laplaciano do Gaussiano. Após a filtragem, o operador procura por valores que cruzam o zero e estão associados à ocorrência de bordas (Dias *et al.*, 2011).

O operador laplaciano de uma função $f(x,y)$ é definido pela Equação (2.9), descrita em Neves e Pelaes (2001).

$$\nabla^2 f(x,y) = \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 f}{\partial y^2} \quad (2.9)$$

A Figura 2.21 mostra o resultado da aplicação do operador laplaciano com máscara de dimensões 3x3. A Figura 2.21(a) se vê a imagem original em tons de cinza, enquanto na Figura 2.21(b) se vê o resultado da aplicação do operador, com as bordas destacadas.

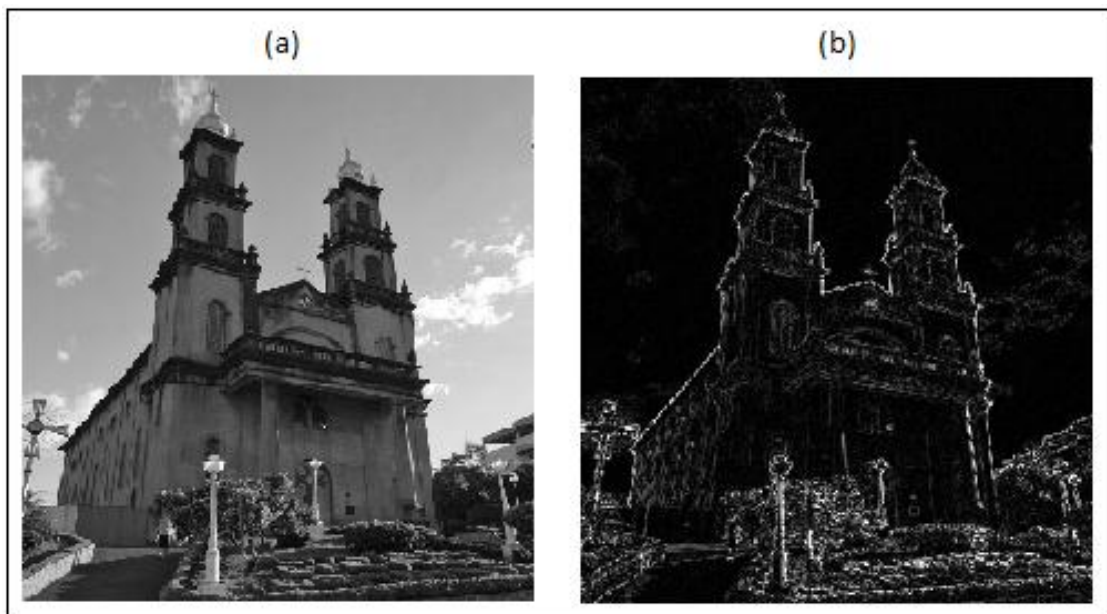


Figura 2.21 - Aplicação do operador Laplaciano. (a) imagem original; (b) resultado da aplicação do laplaciano de dimensões 3x3.

2.3.5.3.3 Canny

O operador de detecção de bordas desenvolvido por John Canny, em 1986, realiza sua função baseado em critérios de quantificação de desempenho de operadores de borda conhecidos como: critério de detecção e critério de localização. Estes critérios de desempenho ainda estão sujeitos a um outro critério, o de resposta múltipla, que corresponde ao fato de que, para uma única borda, deve haver uma única resposta na saída do operador. Para que todos os critérios sejam atendidos, esta técnica aproxima o operador ótimo, obtido a partir dos três critérios de desempenho, pela

primeira derivada da função Gaussiana (Canny, 1986; Vale e Poz, 2002a; Vale e Poz, 2002b).

Em complemento ao operador de detecção de bordas, Canny (1986) propôs um processo chamado supressão não máxima (supressão de valores de pixels que não forem máximos locais na direção transversal à borda), que causaria um afinamento da borda, atendendo à injeção de resposta múltipla, e uma limiarização adaptativa chamada histerese (duplo limiar) com “complementação de bordas”, permitindo eliminar a fragmentação dos contornos das bordas (Canny, 1986; Vale e Poz, 2002a; Vale e Poz, 2002b).

No operador Canny as bordas fracas são incluídas na imagem de saída apenas se estas estão conectadas às bordas fortes. Assim, este processo é menos suscetível a ruídos e mais coerente com as bordas fracas, além de reduzir a fragmentação destas bordas. A convolução é relativamente simples de ser aplicada, mas é cara computacionalmente (Dias *et al.*, 2011).

A Figura 2.22 mostra o resultado da aplicação do operador Canny em uma imagem em tons de cinza. Na Figura 2.22(a) se vê a imagem original e na Figura 2.22(b) o resultado da aplicação do operador com as bordas destacadas.

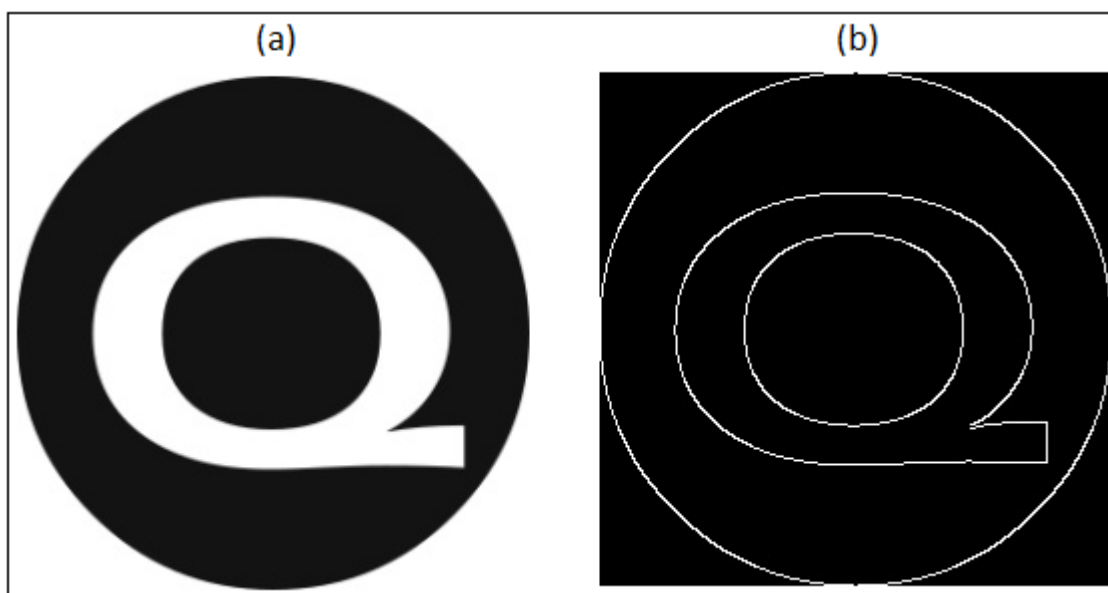


Figura 2.22 - imagem original em tom de cinza (a); imagem após execução do filtro Canny com máscara 3x3 (b).

2.3.5.4 Limiarizar

A segmentação de imagens por Limiarização (*Thresholding*) determina um ou mais limiares entre os valores de níveis de cinza. Estes limiares devem ser escolhidos

de forma a separar, da melhor maneira possível, os objetos de interesse em relação ao seu plano de fundo (Yamada, 2014). A limiarização é uma das técnicas principais no processamento de imagens digitais para realizar o reconhecimento e interpretação de objetos em imagens. É uma técnica considerada de médio nível em que a imagem é separada em visões, separando os objetos e o fundo (Gallon, 2013).

A forma mais simples de se realizar a limiarização é a binária por um limiar único (T). Nesta técnica, a segmentação é efetuada realizando-se uma varredura pixel a pixel na imagem, rotulando cada pixel como sendo pertencente ao objeto ou ao fundo, dependendo se o nível de cinza for maior ou menor que T . Caso o pixel seja menor que T ele será substituído pelo valor 0 (preto), caso seja maior que T , será substituído pelo valor 255 (branco).

A Figura 2.23 mostra um exemplo da operação de limiarização em uma imagem com algumas folhas. Com a execução do processo, grande parte do fundo foi excluído, deixando em destaque a possível área de interesse.



Figura 2.23 - Exemplo de limiarização. (a) imagem original; (a) imagem limiarizada (Univinet, 2016).

2.3.6 Trabalhos relacionados

Peixoto *et al.* (2015) desenvolveram uma ferramenta computacional, utilizando C++ e OpenCV, para automatizar o cálculo da densidade de nódulos de grafita em ferro fundido nodular. O método tradicional de realizar este cálculo é através da análise visual de um operador com o auxílio de um microscópio óptico, assim, gerando grau elevado de subjetividade. O software desenvolvido é baseado em duas técnicas *Watershed* (Belaid e Morou, 2009) e crescimento de regiões (Gonzales e Woods,

2000). Os resultados apresentados pelo software mostraram que foi possível automatizar o cálculo, diminuindo o tempo de 11 minutos no método tradicional para 6 segundos no método automático, sem perder qualidade dos resultados e diminuindo consideravelmente a subjetividade e chance de erro humano.

Albuquerque *et al.* (2007) desenvolveram um aplicativo utilizando processamento digital de imagens e redes neurais artificiais, denominado SVRNA. O software tem como objetivo realizar, de forma automática, a segmentação e a análise estereológica de imagens de metais obtidas em microscópios ópticos. Os experimentos mostraram que o SVRNA produz resultados satisfatórios em um tempo consideravelmente menor quando comparado ao processo tradicional, realizado por um operador de maneira visual, porém, não é indicado seu uso para constituintes eutéticos, como por exemplo, a ledeburita, pois reconhece fases diferentes como sendo uma única fase.

Agarwal *et al.* (2003) utilizaram o software KS400 *image analyzer* para calcular a fração de volume e a distribuição de tamanhos de poros em ligas de 6061-Al. Esta liga metálica é largamente utilizada na indústria automotiva e aeroespacial devido as suas características de soldabilidade e excelente resistência à corrosão. Os autores utilizaram estes cálculos para analisar o comportamento dos poros na liga quando submetida a diferentes tensões em diferentes áreas da liga. Esta análise permitiu encontrar a evolução da relação entre a fração de volume dos poros e a tensão aplicada.

Armienti e Tarquini (2002) realizaram a análise da distribuição de tamanho de cristais e contornos de grão em rochas por meio do software VISILOG 5.2. O software permitiu realizar análise utilizando fotos binárias das rochas. Por meio do VISILOG 5.2 foi identificado que a fração de grãos de superfície maior está ligada ao tamanho menor de grãos, influenciando mecanismos de difusão.

Aydemir *et al.* (2004) fizeram uma comparação entre a identificação das características do solo através de duas técnicas. Uma delas consiste na técnica tradicional, sem uso de software, enquanto a outra utiliza o software de processamento de imagens denominado *Erdas image processing software*. Os autores afirmam que o software se mostrou eficiente para extração de informações a partir de amostras de classificações com múltiplas camadas e múltiplos espectros. O objetivo principal do procedimento de classificação das imagens foi atribuir automaticamente cada pixel de uma imagem multicamada a uma classe de componente do solo. Os resultados apresentados pelo Erdas software obtiveram 95% de acurácia quando comparados ao método tradicional, chegando a quase 100% de acertos para calcita.

Banerjee *et al.* (2013) desenvolveram um software para a segmentação de imagens de aço com duas fases, capturadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Um dos principais desafios para este tipo de segmentação consiste no fato dos contornos de grão serem da mesma intensidade de cor de uma das fases presentes na amostra. Para resolver este problema foi aplicado uma técnica de erosão seguida de dilatação, apresentada em Chanda e Majumder (2001). Os resultados atingidos mostraram que a aplicação do software desenvolvido pelos autores foi satisfatória para uma grande variedade de casos, automatizando a caracterização das amostras.

Buryachenko *et al.* (2003) utilizaram técnicas de PDI para fazer a descrição quantitativa e simulação numérica de compósitos fibrosos e identificar seus efeitos nas propriedades elásticas do material. Neste trabalho foram utilizadas várias técnicas de segmentação de imagens com o intuito de identificar os centroides das fibras existentes na amostra para, então, realizar a simulação numérica. Os métodos utilizados mostraram resultados satisfatórios em relação a análise do módulo de elasticidade dos compósitos.

Chung e Chang (2013) desenvolveram uma ferramenta baseada em Redes Neurais Artificiais (RNA) para calcular automaticamente a distribuição de tamanhos de grãos de sedimentos encontrados em rios. A ferramenta foi chamada de R-AGS e trabalha em duas etapas, a primeira consiste na utilização de RNA para realizar a segmentação da imagem com processo de limiarização e a segunda no cálculo dos tamanhos de grão. Esta técnica foi capaz de classificar os tamanhos de grão em quatro grupos diferentes e, conforme destacaram os autores, não só atingiu os objetivos de fazer a distribuição de tamanho automática e adaptativa, como também tem potencial para substituir complexos e demorados métodos de amostragem manual.

Stanislaw e Maciej (2015) utilizaram o software ImageJ para realizar a análise estereológica em um estudo de trincas em *clusters* existentes em cimento, que são causadas por temperaturas elevadas. Primeiramente, as imagens foram transformadas em binárias, então, através do módulo *analyse particles*, foram extraídas informações de tamanho médio e perímetro médio dos *clusters*. Com base nos resultados das medições estereológicas, verificou-se que as fissuras na superfície dos espécimes foram criadas pela carga de temperatura de 200 °C.

Bilinski *et al.* (2003) aplicaram técnicas de PDI visando encontrar a granulometria de sedimentos de sílica e calcário. As imagens foram binarizadas e tratadas de

forma que as estruturas mais finas contidas nas amostras foram eliminadas progressivamente, permitindo assim a classificação entre as três categorias utilizadas. Os autores afirmam que, de acordo com os resultados, este tipo de técnica pode ser promissor, embora as categorias de ordem menor tenham obtido resultados melhores do que as categorias de ordem maior.

Guo *et al.* (2015) aplicaram técnicas de filtros, limiarização e watershed em imagens digitais para analisar o tamanho dos grãos em amostras de asfalto. Todos os procedimentos foram realizados em escala de cinza, o filtro média foi utilizado para retirar os ruídos que possam existir na imagem, principalmente por poluentes que possam aparecer em algumas áreas no processo de preparação do asfalto. Para definir a limiarização ideal, foi utilizado método OSTU, descrito em Bruno *et al.* (2012). Após a limiarização e aplicação de filtros, a imagem é transformada em binária e então o watershed é executado para separar grãos que estão sobrepostos. Assim, os grãos de interesse são separados na imagem para que possam ser feitos os cálculos esteiológicos de distribuição dos tamanhos dos grãos. Dentre as conclusões do trabalho, os autores ressaltam que o watershed se mostrou eficiente para separar grãos sobrepostos e a técnica utilizada apresentou resultados satisfatórios, sugerindo a substituição do método tradicional, que é mais custosa e demorada.

Horovistiz *et al.* (2004) desenvolveram um método para obter informações quantitativas acerca dos tamanhos de grãos em superfícies fraturadas de materiais cerâmicos. Os autores usaram o ImageJ para realizar o processamento das imagens, que seguiu duas etapas: a separação entre grãos intergranulares e transgranulares e a medição dos tamanhos dos grãos. Após este processo os resultados deste método foram comparados com os métodos tradicionais de medição. A segmentação realizada para realizar a separação dos tipos de grãos e destacá-los perante o fundo das imagens e outros possíveis ruídos foi: mudanças no brilho e contraste da imagem, filtro média com matriz 15x15, equalização do histograma, novamente uso do filtro média de matriz 3x3, limiarização da imagem, transformando-a em binária e, novamente, filtro média de matriz 3x3. Os resultados, comparados com resultados de métodos tradicionais de medição, mostraram que a técnica pode ser usada para extrair informações de tamanho de grãos das imagens de materiais cerâmicos, diminuindo consideravelmente o tempo deste processo.

Horovistiz e Muccillo (2011) propõem um método para caracterização de cerâmicos sinterizados utilizando o ImageJ. Neste trabalho, um dos principais desafios foi

relacionado à própria imagem, que possui contornos de grãos em cores escuras e brilhantes, envoltos em uma matriz constituída em tons de cinza. Conforme os autores, o software de processamento de imagens não reconhece este tipo de contorno de grão sem que um processamento pesado seja feito antes. A solução encontrada foi a utilização de uma sequência de filtros de derivação espacial e morfológica. A técnica utilizada se mostrou eficiente, permitindo a obtenção de diversas informações acerca de distribuição de tamanhos de grão e porosidade dos materiais. Os autores ressaltam que este tipo de técnica pode ser estendido para análises de outros tipos de sistemas.

Marinoni *et al.* (2005) utilizaram o software Image Pro Plus 4.1 para estudar a morfologia da argamassa em imagens digitalizadas. O tratamento das imagens foi conduzido por meio dos seguintes passos: Calibração espacial (para identificar as escalas); detecção de poros por operações aritméticas com as imagens; detecção de minerais por operações aritméticas; identificação de frações de carbonato por intensidade da cor no sistema HSI e manualmente, dependendo da intensidade e homogeneidade da luz na imagem; Detecção de sílica por intensidade da cor no sistema RGB; Medição dos tamanhos das fases existentes nas imagens; análise estatística das informações obtidas. Os autores afirmam que os resultados obtidos por este método foram promissores e sugerem que o processamento digital de imagens pode ser uma alternativa efetiva e automatizada em relação aos métodos mecânicos tradicionais para encontrar a morfologia dos materiais.

2.3.6.1 Contagem de elementos em imagens

Aquino *et al.* (2011) utilizaram o processo de contagem para analisar a síntese e a atividade *in vitro* de anticorpos anti-T. gondii de novos 4-tiazolidinonas. Para determinar a efetividade dos tratamentos realizados, é necessário encontrar a porcentagem de células infectadas e a média do número de parasitas intracelulares. Para tanto, foram contadas pelo menos quatrocentas células e milhares de parasitas. Todas as contagens foram realizadas por operadores diretamente no microscópio, sem a ajuda de softwares. Este procedimento também foi utilizado para contagem de células e parasitas em Gomes *et al.* (2012), Carvalho *et al.* (2014), Carvalho *et al.* (2010), Tenório *et al.* (2005) e Liesen *et al.* (2010).

Oliveira (2013) utilizou a contagem de elementos em imagens para realizar uma análise estereológica *postmortem* do córtex orbitofrontal de indivíduos acometidos por transtorno obsessivo-compulsivo ou por transtorno afetivo bipolar. Nesta investigação,

foi utilizado o plugin “*Cell Counter*” do software ImageJ para contar a quantidade de neurônios presentes nas imagens. Para cada um dos 31 indivíduos selecionados foram contados entre 746 e 2230 neurônios, totalizando entre 23.121 e 69.130 contagens. Não foi realizado nenhum tipo de tratamento ou segmentação nas imagens antes da contagem e não foram registradas informações acerca de tempo de contagem e precisão ou facilidade de uso do software.

Francisco *et al.* (2004) avaliaram o desempenho de uma macro (rotina informatizada) desenvolvida no programa Image-Pro Plus 4.5 exclusivamente para contagem automática de núcleos imunopositivos para o antígeno nuclear em célula proliferante (PCNA). A Macro foi criada com o intuito de reproduzir a segmentação (limiarização e filtros) considerada ideal para este tipo de imagens e, então, realizar a contagem dos elementos que atendessem alguns critérios definidos pelos autores. Apesar da macro não ter contado elementos considerados fracos (baixos níveis de cinza) ou pequenos, a comparação entre os resultados das contagens da macro com as contagens do método tradicional mostrou uma correlação estatística significativa ($r_s = 0,964$, $p < 0,001$) e uma alta proporção ($89,8 \pm 3,8\%$) de núcleos imunopositivos contados coerentemente pela macro. Desta forma, os autores concluíram que a metodologia proposta pode ser considerada uma alternativa válida em relação aos métodos tradicionais de contagem.

Grud *et al.* (2016) desenvolveram um algoritmo para a contagem automática de trincas em materiais compósitos, chamado ACC (*Automated Crack Counting*). O algoritmo proposto trabalha, primeiramente, com a segmentação da imagem por meio de filtros e limiarização para, então, realizar a contagem através de uma varredura pixel a pixel na imagem em busca das trincas destacadas. O método é totalmente automático e, conforme os autores, se mostrou como uma ferramenta rápida, precisa e com alta reprodutibilidade, tornando-a uma ferramenta útil para este tipo de problema específico.

Launeau *et al.* (2010) desenvolveram um software para a contagem de interceptos em imagens em escala de cinza de minerais. O objetivo do trabalho foi apresentar uma ferramenta que permita fazer a contagem melhorando a precisão em relação a outros métodos, que desconsideram alguns interceptos em casos onde os grãos estão sobrepostos, e diminuindo a necessidade de pré-processamento. O sof-

ware foi capaz de determinar satisfatoriamente as informações acerca dos grãos encontrados em minerais a partir de fotos tiradas em uma câmera digital, provando sua utilidade neste tipo de investigação.

Matzl, e Schneebeli (2010) desenvolveram uma ferramenta para o cálculo da área superficial específica em materiais porosos. O algoritmo utiliza uma combinação de filtros e operações lógicas com imagens para segmentá-las. Após este processo, a contagem é feita através de uma varredura na imagem e contagem de interceptos através dos $N8(p)$ vizinhos. A ferramenta criada apresentou grande precisão e economia de tempo, se mostrando consideravelmente útil.

3 METODOLOGIA

O presente capítulo descreve a metodologia utilizada na execução do trabalho. Esta metodologia foi realizada em três etapas cíclicas, seguindo o fluxograma ilustrado na Figura 3.1. Os recursos utilizados, as três etapas do desenvolvimento e a validação do software são detalhados no decorrer deste capítulo.

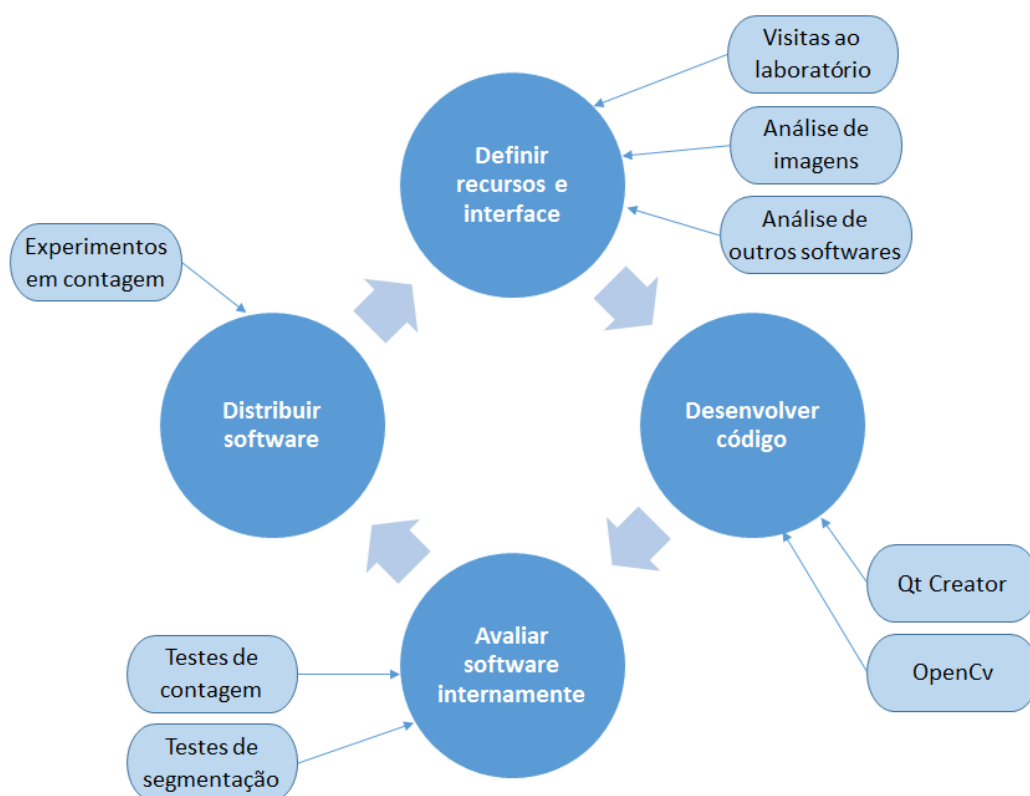


Figura 3.1 - Fluxograma de desenvolvimento do software.

O software desenvolvido neste trabalho foi denominado Quanto. Seu objetivo consiste em auxiliar e automatizar processos de análise e contagem em imagens de microscópios, além de permitir realizar diversos tipos de tratamento e segmentação de imagens com o intuito de possibilitar que sejam feitas análises complexas.

O Quanto foi desenvolvido para plataforma MS-Windows e Linux, entretanto, os recursos utilizados em seu desenvolvimento, o *framework* Qt e a biblioteca OpenCV, são multiplataforma, o que flexibiliza a inclusão de novos recursos e adaptações para outras plataformas.

3.1 Recursos utilizados

O desenvolvimento da aplicação foi feito na linguagem C++, utilizando as facilidades do *framework* Qt Creator 5.6 e a biblioteca OpenCv 3.1, que auxilia o ganho de produtividade na programação de softwares de visão computacional.

3.1.1 Qt software

O Qt *Creator* (Qt) é um *framework* multiplataforma para desenvolvimento de software com interface gráfica de usuário, pertencente à empresa finlandesa de software Digia Oyj. Atualmente é considerado um dos *toolkits* mais completos e promissores. Desde o início do seu desenvolvimento, em 1991, o Qt vem se consolidando não só como um poderoso *toolkit* para construção de interfaces gráficas de usuário, mas também como biblioteca de propósito geral, possuindo recursos para *Inter-Process Communication*, acesso a banco de dados, programação concorrente e distribuída, manipulação de XML, renderização 3D, dentre outras funcionalidades (Santos e Andrade, 2013).

O recurso multiplataforma permite que o código desenvolvido neste toolkit seja compilado em diferentes sistemas operacionais, tais como, Windows, Linux, Mac Os, Android e outros. A abordagem utilizada pelo Qt é a seguinte: “codifique uma vez, compile em qualquer lugar”, este recurso aumenta consideravelmente a produtividade, pois o desenvolvedor não precisará empregar muito tempo no processo de compatibilidade em diferentes sistemas operacionais (Nogueira, 2013; Blanchette, 2008).

O Qt *Creator* é distribuído por meio das licenças *Lesser General Public License* (LGPL) e comercial e disponibiliza diversos recursos para construção facilitada de interfaces gráficas de usuário, depuração, *syntax highlighting*, funções básicas de refatoração, *profiling* e integração com sistemas de controle de versão. A LGPL é uma licença de software livre e o desenvolvimento de softwares é permitido desde que sejam distribuídos com a mesma licença. A licença comercial possui custos e os softwares possuem seus desenvolvimentos autorizados com restrições de licenças (Santos e Andrade, 2013; Vasconcelos, 2010).

Algumas das ferramentas livres e proprietárias mais conhecidas e de ampla utilização que foram desenvolvidos em Qt *Creator* são: KDE, VLC Media Player, Skype, Virtual Box entre outros. Além destes, as empresas mais conhecidas utilizadoras do Toolkit são: Google, Canon e AMD (Sales, 2014).

3.1.2 OpenCV

O OpenCV (*Open Source Computer Vision*) pode ser definido como uma biblioteca de programação voltada para facilitar o desenvolvimento de aplicativos sofisticados de visão computacional. Esta biblioteca foi desenvolvida pela empresa Intel no ano 2000, utilizando a linguagem C e com código aberto. Ela possui módulos de Álgebra Linear, Estrutura de Dados, Processamento de imagens e vídeo e interface gráfica de usuário (Nogueira, 2013; OpenCV, 2012).

Assim como o *QT creator*, o OpenCV é multiplataforma e sua aplicação é feita com grande eficiência em várias tarefas de análise de imagens, tais como: segmentação, reconhecimento de faces, filtragem de imagens, aprendizado de máquina, calibração de câmeras, identificação de objetos e outras (Nogueira, 2013).

A biblioteca contém mais de 500 métodos que englobam diversas áreas da visão computacional, incluindo inspeções em geral, imagens médicas, segurança e robótica (Bradski e Kaehler, 2008; Sales, 2014). Neste trabalho o OpenCV se mostrou de grande importância, principalmente para o aumento da produtividade. Uma vez que possui diversas funções já criadas, excluiu a necessidade de codificar funções para operações mais conhecidas, tais como: Filtros, limiarização, binarização, operações lógicas e aritméticas, dentre outras.

3.2 Etapas do desenvolvimento do software

O Quanto foi desenvolvido em três etapas cíclicas contendo os mesmos procedimentos, conforme pode ser visto na Figura 3.1. Em cada etapa, uma nova versão foi distribuída e testada com novas funcionalidades. Cusumano e Yoffie (1999) salientam algumas vantagens desta metodologia sobre a prática de lançar uma única versão do software completo ao final do desenvolvimento, são elas:

- O software é testado continuamente e o retorno dos usuários permite correções de problemas e a aceitação de sugestões para implementações em versões futuras;
- A divulgação do software é realizada por um período mais longo, permitindo que um número maior de usuários o utilize durante a execução do trabalho;
- Resultados são produzidos durante a execução do trabalho, validando sua importância.

3.2.1 Primeira etapa

3.2.1.1 Definir recursos e interface

O Quanto foi pensado para ser um software de tratamento de imagens de microscópios que facilite e automatize processos de contagem de elementos e caracterização. Para definir suas funcionalidades e interface e tornar o software uma ferramenta útil na execução de tarefas que ainda não possuem auxílio, primeiramente foi realizada uma análise de vários softwares já disponíveis para o uso que se propõem a executar tarefas semelhantes. Esta verificação foi feita com o intuito de identificar recursos importantes que um programa deste segmento precisa ter, além de verificar quais funcionalidades ainda não foram contempladas e que podem ser incluídas no Quanto. Os softwares analisados foram:

- **ImageJ** - Ferramenta livre robusta de análise de imagens com mais de 400 plugins disponíveis para diversas funcionalidades (Collins, 2007);
- **Goitacá** – Software livre com recursos de vídeo-microscopia e estereologia quantitativa (Sales, 2014);
- **Anati Quanti** – Software livre para análises quantitativas em estudos de anatomia vegetal (Aguiar *et al.*, 2007);
- **Image-ProPlus** – Software proprietário de medição e análise de imagens para aplicações científicas, médicas e industriais (Francisco *et al.*, 2004).

A interface gráfica do software definida nesta etapa serviu de base para todas as versões do Quanto, sofrendo apenas pequenas alterações e acréscimos de funcionalidades. Esta interface foi pensada para possibilitar a execução das tarefas de forma simples e intuitiva para que o usuário, sem esforço, possa encontrar o que precisa. A fim de facilitar a assimilação, desde o início do trabalho com o software foi utilizado o máximo possível de similaridade com as interfaces dos softwares analisados.

3.2.1.2 Desenvolver código

3.2.1.2.1 Abrir e salvar imagem

Funções para a abrir e salvar imagens nas extensões conhecidas de imagens "png", "pgm", "jpg", "jpeg", "bmp", "tif", "tiff" e "xpm".

Estas funções foram criadas utilizando recursos da biblioteca OpenCv típicas para esta função (OpenCV, 2012), que, ao se informar o caminho de um determinado arquivo de imagem, carrega o mesmo para o programa no tipo Mat, do OpenCV. Este tipo trata a imagem como uma matriz, permitindo que sejam realizados tratamentos e cálculos.

As funções para abrir e salvar imagens foram alteradas na terceira etapa, em que foram incluídas algumas funcionalidades apresentadas na seção 3.2.3.2.1.

3.2.1.2.2 Sair do programa

Encerra a execução do programa.

3.2.1.2.3 Operações de tratamento de imagens

Na primeira etapa do desenvolvimento foram implementadas várias operações de tratamento de imagens. O OpenCv já possui funções criadas especificamente para todas as funções que foram necessárias no software, as quais foram usadas no Quanto, necessitando somente da entrada de parâmetros por parte do usuário. As funcionalidades são apresentadas no Quadro 3.1.

Funcionalidade	Descrição
Brilho	Altera o brilho da imagem de acordo com um valor informado pelo usuário
Contraste	Altera o contraste da imagem de acordo com um valor informado pelo usuário
Erosão	Aplica a função de erosão nos elementos da imagem
Dilatação	Aplica a função de dilatação nos elementos da imagem
Equalizar histograma	Aplica a equalização da imagem baseado no histograma
Filtro média	Aplica o filtro de suavização média de acordo com a máscara informada pelo usuário
Filtro Mediana	Aplica o filtro de suavização mediana de acordo com a máscara informada pelo usuário
Filtro Gaussiano	Aplica o filtro de suavização gaussiano de acordo com a máscara informada pelo usuário
Sobel	Aplica o filtro de detecção de bordas sobel de acordo com a máscara informada pelo usuário
Laplaciano	Aplica o filtro de detecção de bordas Laplaciano de acordo com a máscara informada pelo usuário
Canny	Aplica o filtro de detecção de bordas Canny de acordo com a máscara informada pelo usuário
Limiarização	Aplica a limiarização em três faixas do histograma, de acordo com as faixas informadas pelo usuário
Binária	Faz a binarização da imagem de acordo com um limiar informado pelo usuário

Tons de cinza	Transforma a imagem para uma imagem monocromática de oito bits (tons de cinza)
Somar imagens	Realiza a soma de duas imagens do mesmo tamanho
Subtrair imagens	Realiza a subtração de duas imagens do mesmo tamanho
Operação lógica E	Realiza a operação lógica E entre duas imagens do mesmo tamanho
Operação lógica NÃO	Realiza a operação lógica NÃO entre duas imagens do mesmo tamanho
Operação lógica OU	Realiza a operação lógica OU entre duas imagens do mesmo tamanho
Operação lógica OU exclusivo	Realiza a operação lógica OU exclusivo entre duas imagens do mesmo tamanho

Quadro 3.1 - Funcionalidades inseridas com o auxílio de funções do OpenCv

3.2.1.2.4 Visualizar histograma

Este recurso permite ao usuário visualizar o histograma da imagem em questão. Para gerar o histograma foi criada uma estrutura de repetição passando por todos os pixels da imagem e contabilizando a intensidade de brilho de cada um. Ao final, é mostrada uma imagem gerada com o acumulado de cada valor em forma de histograma.

3.2.1.2.5 Zoom

O zoom serve para ampliar ou reduzir uma imagem para melhorar a visualização de determinados elementos. O próprio Qt Creator já possui a função *Scaled Contents* em seus *labels*, que ajusta proporcionalmente o tamanho da imagem ao tamanho do *label*. Desta forma, ao se deixar esta opção selecionada, necessita-se somente alterar o tamanho do label para que a imagem seja ampliada ou reduzida.

3.2.1.3 Avaliar software internamente

Consistiu em testar a versão do software em busca de erros de desenvolvimento. Este processo foi realizado por três usuários internos com conhecimentos avançados em computação. A avaliação se encarregou de encontrar e registrar os erros para que possam ser corrigidos nas etapas posteriores.

Esta avaliação foi realizada da mesma forma nas três etapas de desenvolvimento do Quanto, portanto, será explicada somente nesta seção.

3.2.2 Segunda etapa

3.2.2.1 Definir recursos e interface

Após implementar os recursos de tratamento e segmentação de imagens, foram realizadas diversas visitas ao Laboratório de Biologia Celular e Tecidual (LBCT - UENF), onde foi possível acompanhar processos de contagem de células e parasitas em imagens de microscópios. Nestas visitas, o processo de contagem dos elementos foi acompanhado passo a passo, o que possibilitou entender na prática as especificidades deste processo que, até então, é realizado manualmente e sem a ajuda de qualquer software ou recurso de computação. Assim, foram definidas as funcionalidades e recursos do Quanto em relação a contagem de elementos, as quais são apresentadas na seção 3.2.2.2.

3.2.2.2 Desenvolver código

3.2.2.2.1 Selecionar escala

Serve para indicar uma escala de tamanho na imagem em questão. O usuário deve traçar uma reta na imagem e informar o tamanho em uma determinada unidade de medida (UM) escolhida por ele. Após este processo, captura-se o tamanho em pixels dessa reta para que seja feito o cálculo desta grandeza em relação ao tamanho informado pelo usuário na unidade de medida escolhida, encontrando assim a relação pixel/UM. Com esta relação, pode-se encontrar qualquer medida na imagem.

3.2.2.2.2 Criar formas

Permite que o usuário crie formas na imagem, tais como, retas, retângulos, elipses e outros. Para realizar esta operação foram utilizadas as classes do Qt *Creator* *QEventFilter*, que captura eventos executados pelo usuário, e *QPainter*, que cria as formas na imagem. Deste modo, quando o usuário seleciona a opção de criar formas o *QEventFilter* é iniciado e captura o ponto exato em que o usuário realiza um clique na imagem (*MouseClicked*) e o ponto exato onde ele libera este clique (*MouseRelease*). Após estas informações serem capturadas, elas são submetidas ao *QPainter* que cria a forma selecionada pelo usuário. Um dos parâmetros do *QPainter* é a sua cor, que é definida de acordo com a cor selecionada pelo usuário na interface gráfica do software.

Ao criar uma forma, se houver uma escala selecionada, o Quanto irá calcular o tamanho ou a área desta forma na unidade de medida da escala. Esta informação poderá ser exibida ou não, de acordo com um *checkbox*.

3.2.2.2.3 Realizar contagem

Esta funcionalidade permite que o usuário realize a contagem de elementos de vários tipos diferentes em uma imagem aberta no programa. A contagem envolve vários procedimentos no Quanto, tais como, adicionar e excluir tipos, incrementar elemento, marcar elemento na imagem, decrementar elemento e desmarcar elemento na imagem.

A função *QEventFilter* foi utilizada para identificar o local onde o usuário realizou um click. Considera-se que neste local existe um elemento a ser contabilizado na contagem. Assim, ao realizar o click, o software guarda informações sobre o local exato na imagem e o tipo que o usuário selecionou para contabilizar o elemento, além de outras informações internas.

As informações acerca de cada ponto clicado pelo usuário, tais como, localização, tipo e outros, são guardadas em uma estrutura de dados do tipo lista encadeada, que funcionou de forma satisfatória, pois transforma cada ponto em um elemento único. Desta forma, caso o usuário deseje excluir um determinado ponto por ter feito uma contagem errada ou por qualquer outro motivo, necessita-se somente identificar o local onde o ponto se encontra e deletar este ponto da lista.

Outro recurso importante que a estrutura do tipo lista encadeada proporcionou foi a possibilidade de plotar e apagar estes pontos na imagem quantas vezes for necessário. Para isto foi criada uma função que passa por todos os índices da lista e plota cada ponto na imagem com uma cor diferente para cada tipo. Para plotar os pontos na imagem foi utilizada a classe *QPainter*, que cria pequenos quadrados de 8x8 pixels.

O uso do procedimento de contagem na prática pode ser visto na seção 4.2.9.

3.2.2.2.4 Contagem automática

O procedimento de contagem automática realiza uma busca na imagem em questão com o intuito de localizar elementos semelhantes a um *template*, previamente selecionado pelo usuário, e contabiliza estes elementos na contagem.

Para realizar esta tarefa foi utilizada a função *TemplateMatching* do OpenCv. Esta função realiza uma varredura em toda imagem procurando por regiões que tenham qualquer nível de semelhança com um *template* previamente definido e gera uma nova imagem em tons de cinza. Esta nova imagem gerada pela função aparece borrada com regiões mais escuras e mais claras seguindo a seguinte regra: quanto

mais clara estiver a região na nova imagem, maior é a semelhança daquela região com o *template* utilizado. Desta forma, consegue-se identificar diversos elementos parecidos com o uma região de interesse para serem considerados na contagem.

A Figura 3.2 mostra um exemplo de aplicação do *templateMatching* em uma imagem. Na Figura 3.2(a) encontra-se a imagem original, que consiste em uma imagem de células com alguns parasitas, tipicamente usada em contagens. Na Figura 3.2(b) o *template* utilizado (este *template* é uma parte recortada da imagem original, neste caso, um dos parasitas que estão ao redor da célula) e na Figura 3.2(c) a imagem resultante da aplicação da função. Nota-se, claramente, que os locais onde existiam parasitas na imagem original aparecem destacados na imagem de resultado, sugerindo semelhança maior em relação ao *template*.

Para finalizar o método de contagem automática, utiliza-se um grau de correlação informado pelo usuário e então percorre-se por toda a imagem, se a alguma região possuir correlação maior ou igual ao informado pelo usuário, aquela região entrará na contagem. Para facilitar o procedimento como um todo, as regiões selecionadas para serem contabilizadas na contagem automática são incluídas na lista encadeada de pontos explicada na seção 3.2.2.2.3 e, a partir de então, são tratadas como pontos marcados na contagem manual, podendo ser excluídos.

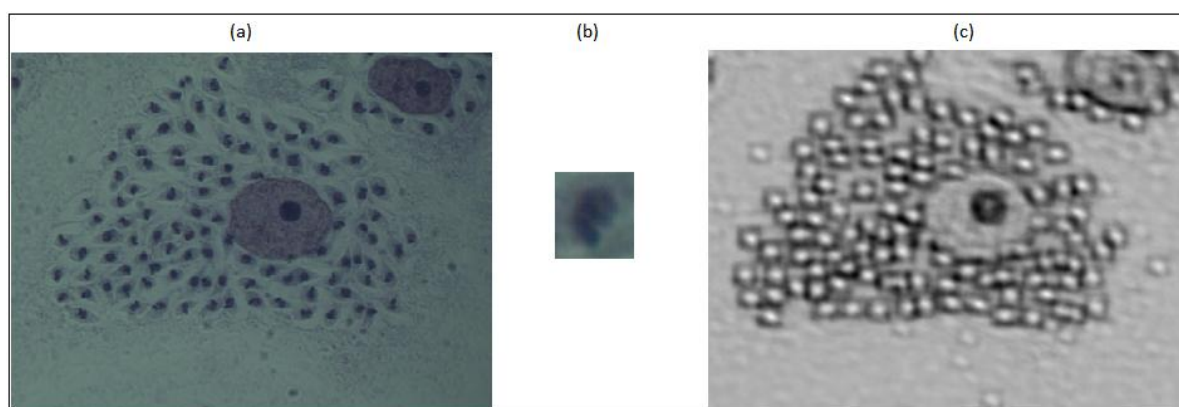


Figura 3.2 - Exemplo de aplicação da função *TemplateMatching*. (a) imagem original; (b) *template* utilizado; (c) imagem em tons de cinza gerada pela função como resultado.

3.2.2.3 Distribuir Software

A versão distribuída foi aquela aprovada na avaliação interna e posteriormente distribuída aos usuários externos para testes de maior envergadura. O Quanto foi disponibilizado para o Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, assim como para os técnicos e pesquisadores do Laboratório de Materiais Avançados (LAMAV-Uenf).

3.2.3 Terceira etapa

3.2.3.1 Definir recursos e interface

Os testes realizados por pesquisadores utilizando o Quanto para realizar a contagem de elementos na prática, mostraram os pontos positivos e as dificuldades de uso do software. Desta forma, foram identificadas funcionalidades adicionais a serem desenvolvidas ou melhoradas, as quais são apresentadas na seção 3.2.3.2.

3.2.3.2 Desenvolver código

3.2.3.2.1 Salvar projeto e carregar projeto (criação da extensão “.qto”)

Ao realizar os testes com o software na segunda etapa do desenvolvimento, foi identificado que muitas vezes o usuário precisará realizar a contagem em diversas imagens do mesmo tipo e, diante da quantidade elevada de contagens, precisará parar o processo e retomá-lo em outro momento. Diante disto, foi necessário criar uma forma de salvar o estado da contagem a qualquer momento para que ele possa ser carregado posteriormente.

Para resolver este problema, o recurso salvar imagem, implementado na primeira etapa do desenvolvimento, foi alterado de forma a criar uma extensão específica do Quanto, a extensão “.qto”. Assim, os arquivos salvos com esta extensão possuem duas partes principais: a imagem que está sendo trabalhada e os dados referentes a contagem. A junção destes dois dados de tipos diferentes (a imagem e a lista encadeada dos pontos de contagem) é feita transformando-os em um tipo único, utilizando a classe do Qt Creator *QByteArray*. Além destes dados, o arquivo com extensão “.qto” guarda algumas informações importantes, tais como, nome da imagem que foi trabalhada, caminho onde se encontra a imagem, entre outros.

A função abrir imagem também precisou ser alterada de forma a carregar os dados de contagem. Ao abrir uma imagem, primeiramente é feita uma verificação do tipo de arquivo que foi selecionado, caso seja um arquivo de imagem padrão (extensões "png", "pgm", "jpg", "jpeg", "bmp", "tif", "tiff" e "xpm"), a imagem é simplesmente carregada com auxílio do OpenCv, caso seja um arquivo do Quanto (extensão “.qto”) é necessário um tratamento diferenciado. Este tratamento exerce a função de separar a imagem dos dados da contagem e carregar a lista encadeada com os dados existentes no arquivo carregado. Após este processo a imagem é carregada na tela do programa e é possível continuar a contagem normalmente.

3.2.3.2 Avançar para próxima imagem e retornar para imagem anterior

Para facilitar a utilização do programa, foram implementadas as funcionalidades de avançar para a próxima imagem do diretório e recuar para a imagem anterior. Estas funções percorrem o diretório em busca do próximo arquivo ou do arquivo anterior (de acordo com o selecionado pelo usuário) e, ao encontrá-lo, chamam a função carregar projeto. Para que não sejam perdidas informações, a função salvar projeto sempre é chamada antes de carregar um novo projeto e, para não criar muitos arquivos no diretório do usuário, o programa cria uma pasta chamada *Quanto Projects* em que são salvos estes arquivos.

3.2.3.2.3 Salvar relatório

Ao final de toda contagem, sendo feita com o auxílio de softwares ou não, é necessário que os dados sejam tabulados em uma planilha. Diante disto, a função salvar relatório foi criada para facilitar este processo e aumentar a produtividade.

Esta função utiliza recursos de outras duas funções já explicadas, avançar para próxima imagem e carregar projeto, pois, ela percorre por um diretório previamente selecionado pelo usuário e, ao encontrar um arquivo “qto”, captura as informações acerca da contagem, tais como, tipos, quantidade de elementos de cada tipo, nome da imagem, entre outros.

Estes dados capturados são exportados para um arquivo com extensão “csv”, um arquivo de texto que pode ser lido pelos aplicativos de planilhas eletrônicas. Para organizar os dados de forma correta são utilizados os separadores “;” para indicar uma nova célula a frente e “\n” para indicar quebra de linha.

O procedimento supracitado é repetido para todos os arquivos com extensão “qto” do diretório indicado pelo usuário. Após todos os dados serem exportados para o arquivo com extensão “csv”, são incluídas fórmulas de média e desvio padrão, comumente utilizadas nos processos de contagem.

3.2.3.2.4 Exportar imagem

Ao se alterar o recurso de salvar imagem para salvar os projetos Quanto, o software impossibilitou o usuário de salvar somente a imagem com as segmentações e tratamentos realizados, sem os dados de alguma contagem. Assim, a função exportar imagem foi criada, ela simplesmente salva a imagem em um formato padrão de imagem com o auxílio de funções do OpenCv.

3.2.3.3 Fração volumétrica por fração de pontos

As funcionalidades relacionadas a cálculos estereológicos foram as últimas a serem implementadas. A fração volumétrica por fração de pontos realiza este cálculo através de uma malha de pontos que são inseridos igualmente espaçados na imagem, a qual deve ser previamente binarizada. Para realizar o cálculo, antes de inserir os devidos pontos na imagem, é realizada uma verificação do pixel em que o ponto será inserido. Caso este pixel esteja em um local correspondente à fase de interesse, este será contabilizado para a realização do cálculo.

Após inserir e contabilizar todos os pontos, é realizado o cálculo apresentado na Equação (2.1).

3.2.3.4 Área superficial por unidade de volume teste

Para realizar o cálculo da área superficial por unidade de volume teste, são inseridas linhas igualmente espaçadas na imagem, que deve ser previamente binarizada. Ao inserir estas linhas, a imagem vai sendo verificada pixel a pixel e, sempre que a linha intercepta a fase de interesse, este intercepto é contabilizado em um contador. Após inserir todas as linhas, o número total de interceptos e o tamanho total das linhas é conhecido. Portanto, resta somente aplicar estes valores à Equação (2.2) para conhecer o valor de S_v .

3.2.3.5 Comprimento por unidade de volume teste

Para calcular o comprimento por unidade de volume teste, necessita-se contar quantos elementos da fase de interesse existem na imagem. Para isto, foi utilizado o algoritmo conhecido como Flood Fill, que percorre toda imagem binarizada e, ao encontrar um objeto, marca o mesmo, permitindo realizar a contagem de quantos elementos foram marcados.

Após realizar a contagem de todos os objetos e calcular a área da imagem de acordo com a escala previamente definida pelo usuário, o programa realiza o cálculo da Equação (2.3) e determina o L_v .

3.2.3.6 Distribuir Software

Novamente, a versão distribuída foi aquela aprovada na avaliação interna. Desta vez, com uma versão mais completa. O Quanto foi disponibilizado para o Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, para os técnicos e pesquisadores do Laboratório de Materiais Avançados (LAMAV-Uenf), para o laboratório de biologia da Faculdade

Santa Marcelina (LabBio FASM - Muriaé-MG) e está disponível para download no endereço: <https://sourceforge.net/projects/quantosoftware/?source=directory>.

4 APRESENTAÇÃO DO SOFTWARE

O presente capítulo tem por finalidade apresentar os principais recursos desenvolvidos no Quanto, mostrar o resultado da validação do software proposto frente à utilização de métodos manuais e discutir os resultados e percepções relacionadas ao uso do Quanto em processos práticos.

4.1 Interface gráfica

A interface do Quanto foi desenvolvida para ser simples e intuitiva, seguindo a tendência e os padrões utilizados na maioria dos softwares que se propõem a análise e tratamento de imagens (Sales, 2014; Collins, 2007; Aguiar *et al.*, 2007; Francisco *et al.*, 2004). Esta interface é composta de barra de menu, caixas de ferramentas, painel lateral de funcionalidades, ferramentas de criação de formas, área de trabalho e painel de *snapshot*. A Figura 4.1 apresenta a tela de interface do Quanto com uma imagem carregada para análise.



Figura 4.1 - Interface gráfica do Quanto. 1) barra de menu; 2) caixas de ferramentas; 3) painel lateral de funcionalidades; 4) ferramentas de criação de formas; 5) área de trabalho; 6) painel de *snapshot*.

A barra de menus foi dividida em cinco menus principais, sendo eles: Arquivo, Editar, Ferramentas, Filtros e imagem. Cada menu principal agrupa submenus relacionados que podem chegar até três níveis na hierarquia. O Quadro 4.1 apresenta os menus principais e seus respectivos submenus.

Menu principal	Submenu 1	Submenu 2	Submenu 3
Arquivo	Abrir	-	-
	Salvar	-	-
	Exportar imagem	-	-
	Sair	-	-
Editar	Copiar	-	-
	Colar	-	-
	Recortar	-	-
Ferramentas	Selecionar escala	-	-
	Operações	Morfológicas	Erosão
			Dilatação
		Histograma	Equalizar
			Normalizar
			Visualizar
		Segmentação	Watershed
			Limiar
			Binária
			Negativo
		Aritméticas	Tons de cinza
			Somar
		Lógicas	Subtrair
			E
Não			
Ou			
Lógicas	Ou exclusivo		
	Brilho e contraste	-	
	Passa alta	Sobel	-
		Laplaciano	-
Canny		-	
Passa baixa	Média	-	
	Mediana	-	
	Gaussiana	-	
Imagem	Próxima imagem	-	-
	Imagem anterior	-	-
	Zoom +	-	-
	Zoom -	-	-

Quadro 4.1 - Composição e hierarquia da barra de menus do Quanto.

A região composta pelas caixas de ferramentas possui diversos atalhos de acesso rápido que dão acesso às ferramentas de tratamento e segmentação de imagens. O propósito destas caixas de ferramentas é facilitar o uso de recursos frequentes, aumentando a produtividade. Entretanto, com o intuito de padronizar o software, todas as funcionalidades contidas nestas barras também podem ser encontradas na barra de menu. Outro recurso presente nas caixas de ferramentas é a possibilidade de alterá-las de lugar de acordo com as necessidades e vontades do usuário, tornando a interface gráfica do Quanto mais flexível.

O painel lateral de funcionalidades agrupa os recursos principais do Quanto. É nesta região que o usuário poderá iniciar e proceder a contagem de elementos em imagens e realizar as medições estereológicas de seu interesse.

As ferramentas de criação de formas são aquelas que permitem ao usuário criar elipses, retângulos, anotações, entre outros. Nesta região pode-se também definir a cor das formas e a ação de mostrar ou não as medições ao criar as formas supracitadas.

A área de trabalho é aquela em que a imagem é exibida e trabalhada. Nesta área a imagem será carregada para que todas as alterações, contagens, medições e formas sejam exibidas.

No painel de *snapshot* são exibidas miniaturas das imagens resultantes das operações realizadas no programa. Cada ação realizada no Quanto gera um novo snapshot com uma nova miniatura neste painel. Ao clicar em uma destas miniaturas, a ação realizada é desfeita ou refeita.

Ainda com o intuito de aumentar a facilidade de uso e produtividade, bem como tornar o software mais amigável, o Quanto possui uma série de combinações de teclas de atalho que, ao serem pressionadas, realizam as funções de tratamento de imagens e segmentação. O Quadro 4.2 destaca as operações disponíveis no Quanto com suas respectivas teclas de atalho.

Tipo de operação	Operação	Teclas de atalho
Menu Arquivo	Abrir	Ctrl + O
	Salvar	Ctrl + S
	Exportar imagem	Ctrl + K
	Sair	Ctrl + Esc
Menu Editar	Copiar	Ctrl + C
	Colar	Ctrl + V

Tipo de operação	Operação	Teclas de atalho
Operações aritméticas	Somar	Ctrl + P
	Subtrair	Ctrl + F
Operações lógicas	E	Ctrl + A
	Não	Ctrl + 7
	Ou	Ctrl + 5
	Ou exclusivo	Ctrl + 6

	Recortar	Ctrl + X	Ajustes	Brilho e Contraste	Ctrl + B
Menu ferramentas	Selecionar escala	Ctrl + H	Filtros passa alta	Sobel	Ctrl + 1
Operações morfológicas	Erosão	Ctrl + E	Filtros passa baixa	Laplaciano	Ctrl + 2
	Dilatação	Ctrl + D		Canny	Ctrl + 3
Operações com histograma	Equalizar histograma	Ctrl + Q		Média	Ctrl + 4
	Visualizar histograma	Ctrl + N	Mediana	Ctrl + M	
	Normalizar histograma	Ctrl + J	Gaussiana	Ctrl + G	
Segmentação	Watershed	Ctrl + W	Menu Imagem	Próxima Imagem	Ctrl + >
	Limiar	Ctrl + L		Imagem Anterior	Ctrl + <
	Binária	Ctrl + B		Zoom +	Ctrl + +
	Negativo	Ctrl + I		Zoom -	Ctrl + -
	Tons de cinza	Ctrl + T		-	-

Quadro 4.2 - Operações disponíveis no Quanto e suas respectivas teclas de atalho.

4.2 Funcionalidades

Esta seção apresenta o procedimento de uso das funcionalidades para as quais o Quanto foi desenvolvido. Cabe ressaltar que, para evitar redundância, os recursos comumente encontrados nos softwares de análise de imagens não foram abordados.

4.2.1 Selecionar escala

Permite ao usuário, a partir de uma medida conhecida na imagem, definir uma escala de tamanho em uma determinada unidade de medida escolhida.

Para definir a escala, após carregar uma imagem no programa, o usuário deverá selecionar a devida opção no menu ferramentas ou através de um dos atalhos de acesso rápido (Seção 4.1), então será exibida uma mensagem indicando o próximo passo, em que o usuário deverá traçar uma reta em uma distância conhecida. A tela com esta mensagem é exibida na Figura 4.2.

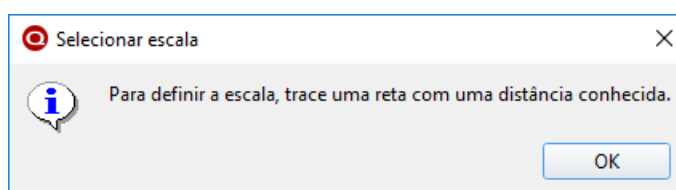


Figura 4.2 - Mensagem do Quanto ao clicar na opção de selecionar escala.

Após clicar em “Ok”, a mensagem desaparecerá e o software ficará aguardando que o usuário trace uma reta na imagem. Para melhorar a precisão deste processo, esta reta obrigatoriamente é feita na horizontal, pois, independentemente da posição do mouse, o Quanto usa a mesma coordenada (eixo x da matriz da imagem) para plotar esta linha.

Ao traçar a reta supracitada, aparecerá um pequeno formulário solicitando as informações relacionadas ao tamanho e unidade de medida. Nesta tela é possível visualizar e alterar o tamanho em pixels da reta, indicar o tamanho conhecido na unidade de medida que o usuário preferir e indicar esta unidade de medida. A Figura 4.3 mostra a tela do quanto após traçar a reta necessária para selecionar a escala. Nela se vê o formulário de solicitação de informações da escala e a reta traçada em vermelho logo abaixo do formulário. É importante frisar que após clicar em “Ok” a reta desaparecerá e a escala será plotada no canto inferior direito da imagem.

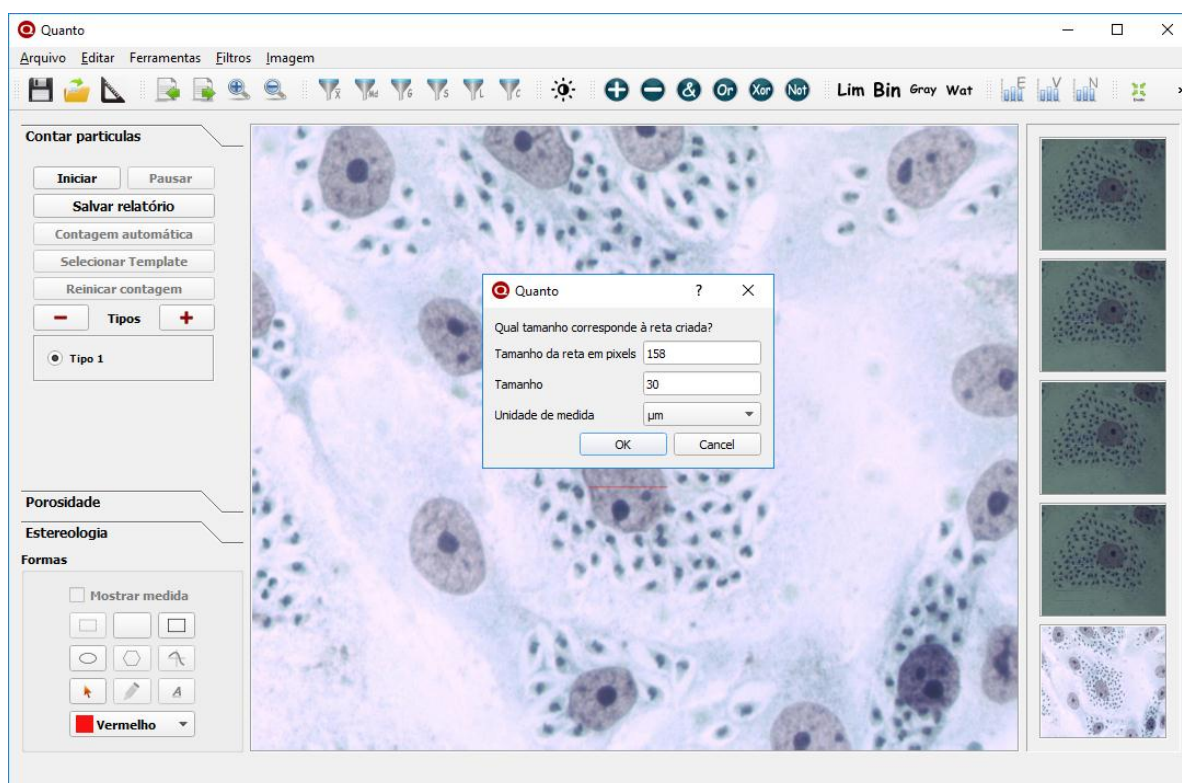


Figura 4.3 - Tela do Quanto no processo de definir escala.

4.2.2 Criar formas

O Quanto permite que sejam criadas elipses, retângulos, retas e outras formas. Para isto, é necessário utilizar as ferramentas de criação de formas que ficam no canto

inferior esquerdo da tela do software. Ao clicar na forma escolhida, basta clicar na imagem e “arrastar” o mouse para que a forma seja traçada. O usuário poderá ainda escolher a cor da forma e se a medida daquela forma deverá ser exibida. A Figura 4.4 ilustra uma imagem com diferentes formas de diferentes cores criadas no programa, algumas com medidas e outras sem a medida.

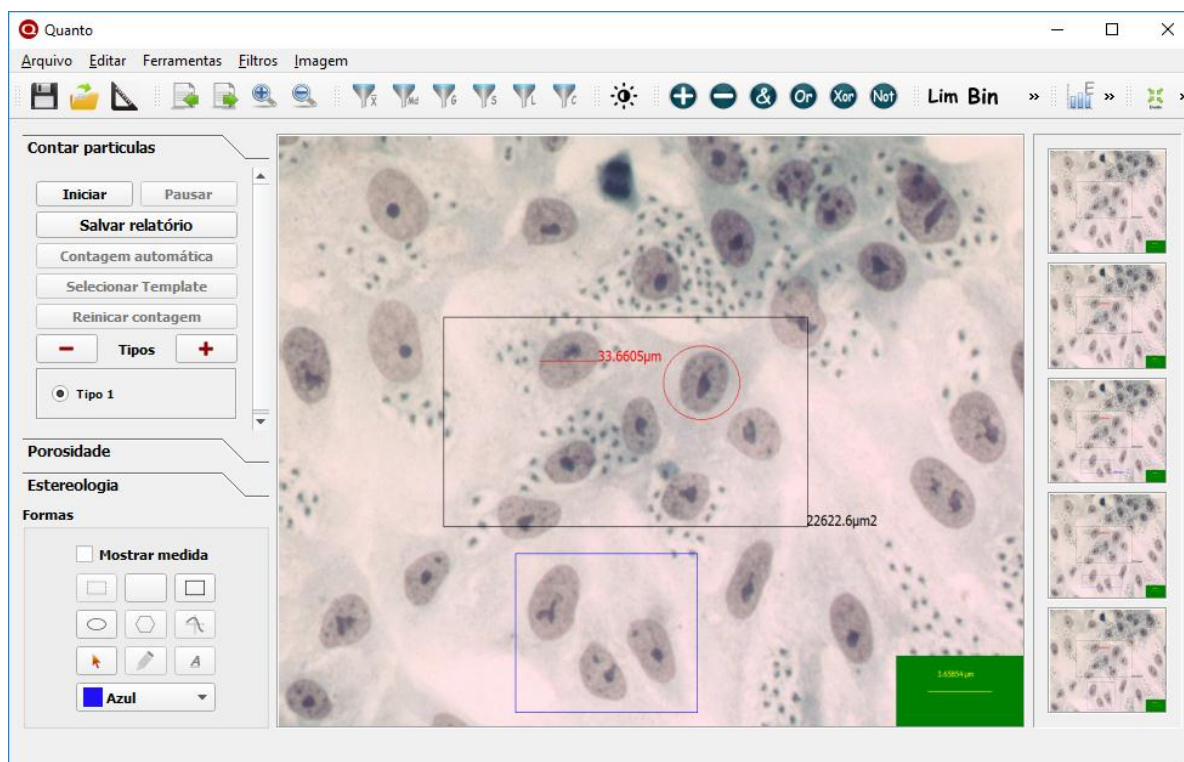


Figura 4.4 - Exemplo de criação de formas no Quanta.

4.2.3 Operações morfológicas

A opção de operações morfológicas permite executar as operações de erosão e dilatação. A erosão visa diminuir uma determinada fase na imagem, enquanto a dilatação tende a aumentar uma determinada fase. Para realizar a erosão e a dilatação, basta selecionar estas opções no menu ferramentas ou utilizar as teclas de atalho e a operação será executada na imagem. Na Figura 4.5 pode ser visto um exemplo de execução das duas operações.

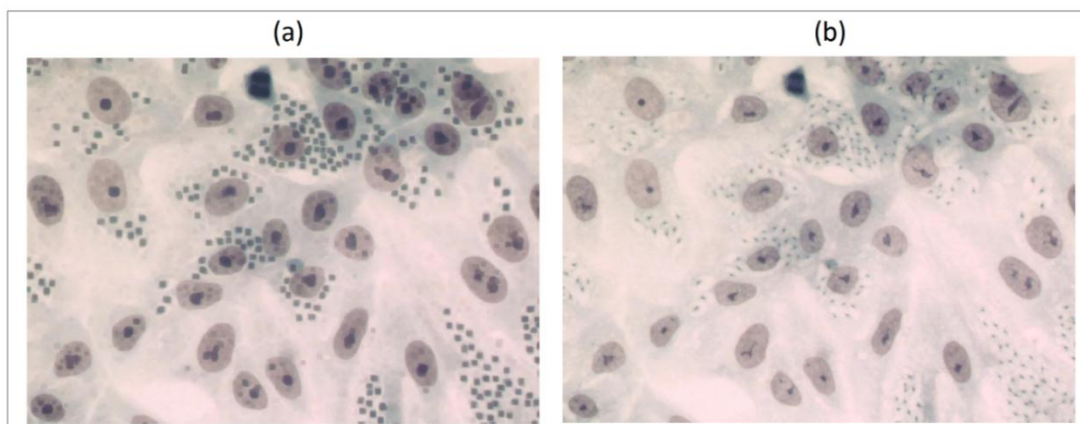


Figura 4.5 - Exemplos de operações morfológicas no Quanto. (a) imagem após ser executado três vezes o processo de dilatação. (b) imagem após ser executado três vezes o processo de erosão.

4.2.4 Operações com histograma

Duas operações com histograma foram implementadas no Quanto. A primeira é a visualização do histograma, que pode ser acessada no menu Ferramentas → Operações → Histograma → Visualizar, pela caixa de ferramentas relacionada ao histograma ou pelas teclas de atalho Ctrl+V. Esta opção mostra o histograma da imagem carregada no programa e seu uso pode ser visto na Figura 4.6.

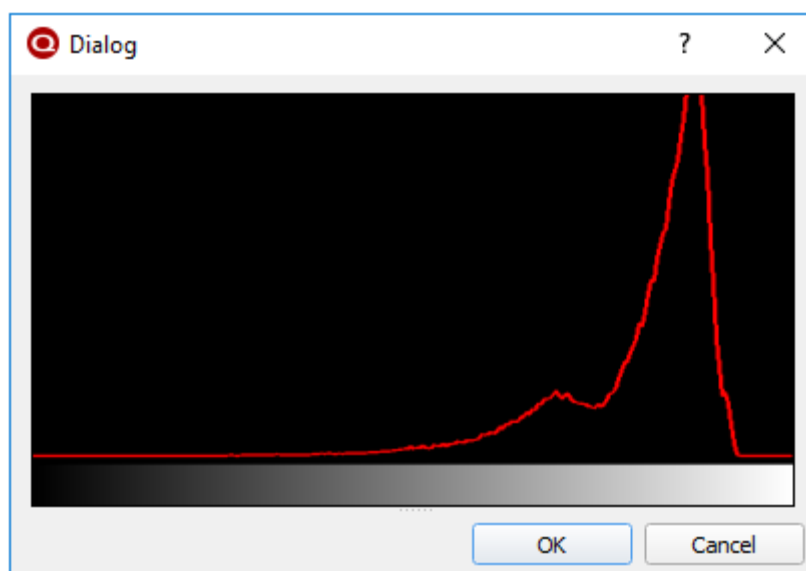


Figura 4.6 - Exemplo de uso da opção visualizar histograma.

O Quanto também permite que o histograma da imagem seja equalizado, diminuindo os picos de intensidade. Para equalizar o histograma basta acessar o menu Ferramentas → Operações → Histograma → Equalizar, clicar no ícone de equalizar

presente na caixa de ferramentas relacionada ao histograma ou usar as teclas de atalho Ctrl+Q. A Figura 4.7 ilustra o resultado da operação feita no Quanto.

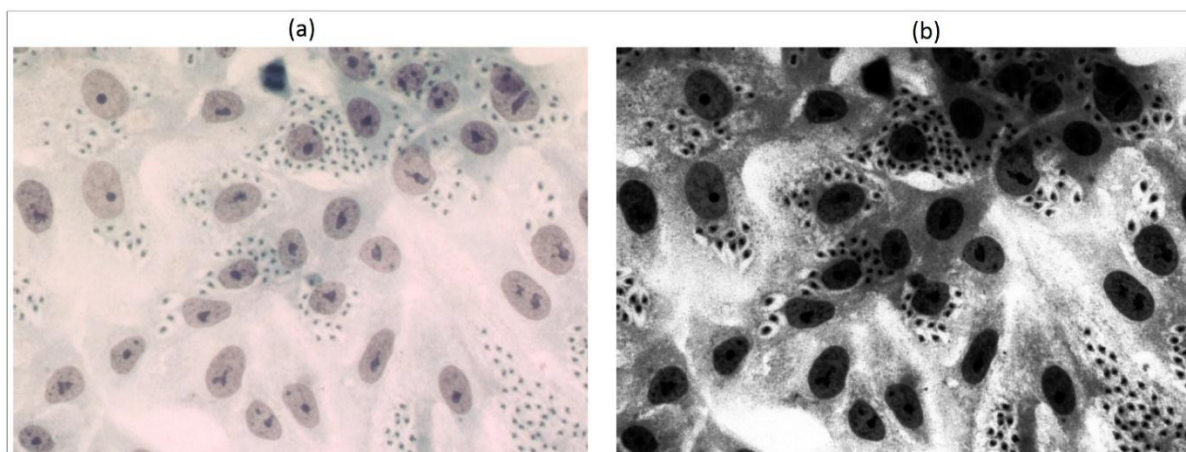


Figura 4.7 - Exemplo de execução da operação equalizar histograma. (a) imagem original; (b) resultado do histograma equalizado.

4.2.5 Segmentações

Na parte de segmentações podem ser feitas quatro operações diferentes: Limiar, binária, tons de cinza e negativa. Todas as quatro trabalham com a imagem em tons de cinza.

Para transformar uma imagem colorida em uma imagem monocromática com 256 níveis de cinza, o usuário necessita clicar na opção respectiva, disponível no menu Ferramentas → Operações → Segmentação → Tons de cinza, na caixa de ferramentas relacionada à segmentação e nas teclas de atalho Ctrl+T. A Figura 4.8 mostra o resultado desta operação no Quanto.

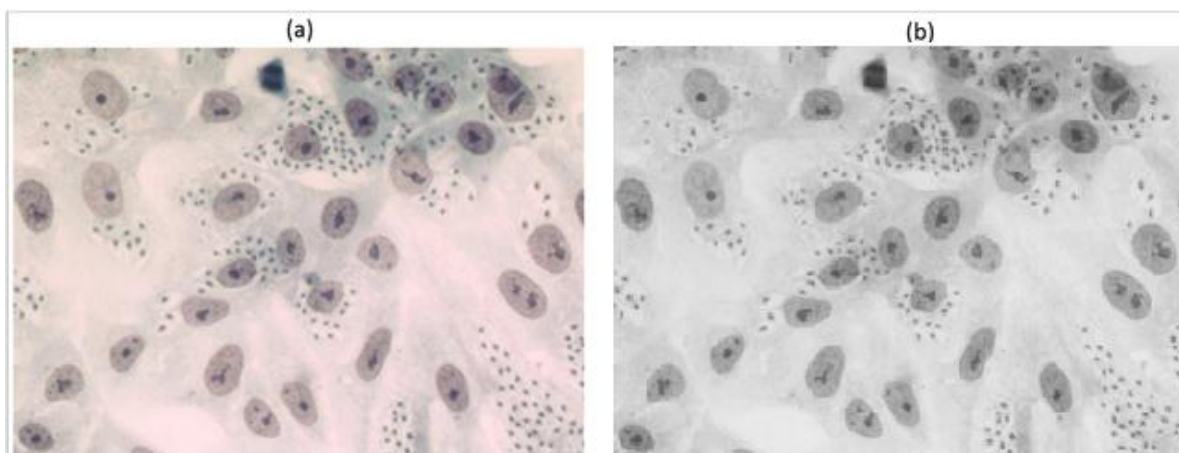


Figura 4.8 - Exemplo de operação de transformação da imagem em tons de cinza no Quanto. (a) imagem original; (b) resultado da operação.

Para realizar a transformação da imagem em binária ou para realizar a limiarização, assim como na transformação em tons de cinza, também é necessário acessar o menu na área de segmentação ou utilizar uma das formas de acesso rápido. Entretanto, nestas duas operações, necessita-se definir um limiar. Por exemplo, no processo de binarização, se o limiar for definido como 127, todos os pixels que tiverem valor inferior a 127 recebem o valor zero e todos os pixels acima deste nível recebem o valor 255. Este limiar é comumente definido no gradiente central (127 para imagens de 256 níveis de cinza). Todavia, muitas vezes se torna interessante utilizar diferentes limiares de acordo com cada tipo de imagem, assim, no processo de binarização e limiarização, o Quanto permite ao usuário definir este valor.

Ao selecionar uma dessas duas opções, uma nova “janela” de auxílio será carregada. Esta nova “janela” possui três campos principais: a visualização do histograma da imagem, disponível para orientar a decisão do usuário; dois *sliders* para o usuário definir, de fato, os limiares (para binarização é usado somente um *slider* e para limiarização são usados dois); e a imagem resultante, para que o usuário possa saber o resultado daquela operação antes mesmo de executá-la.

É importante ressaltar que a limiarização implementada no Quanto utiliza dois limiares, permitindo que sejam separadas até três faixas de valores em imagens. Acredita-se que este recurso pode ser muito útil em imagens que possuem mais de um pico de intensidade no histograma. A Figura 4.9 ilustra a “janela” de solicitação dos limiares no processo de limiarização. Na prévia do resultado da operação é possível notar as três faixas destacadas pelo processo. Os pixels que estavam abaixo do primeiro limiar (160) receberam o valor zero (preto), aqueles que estavam entre os dois limiares (entre 160 e 200) continuaram com seus respectivos valores e aqueles acima do segundo limiar (200) receberam a cor azul.

Na parte direcionada a segmentação, é possível ainda realizar a negativa de uma determinada imagem. Para isto o usuário deverá selecionar a respectiva opção no menu de segmentações e o programa irá executar a operação na imagem carregada. Um exemplo desta operação no Quanto pode ser visto na Figura 4.10.

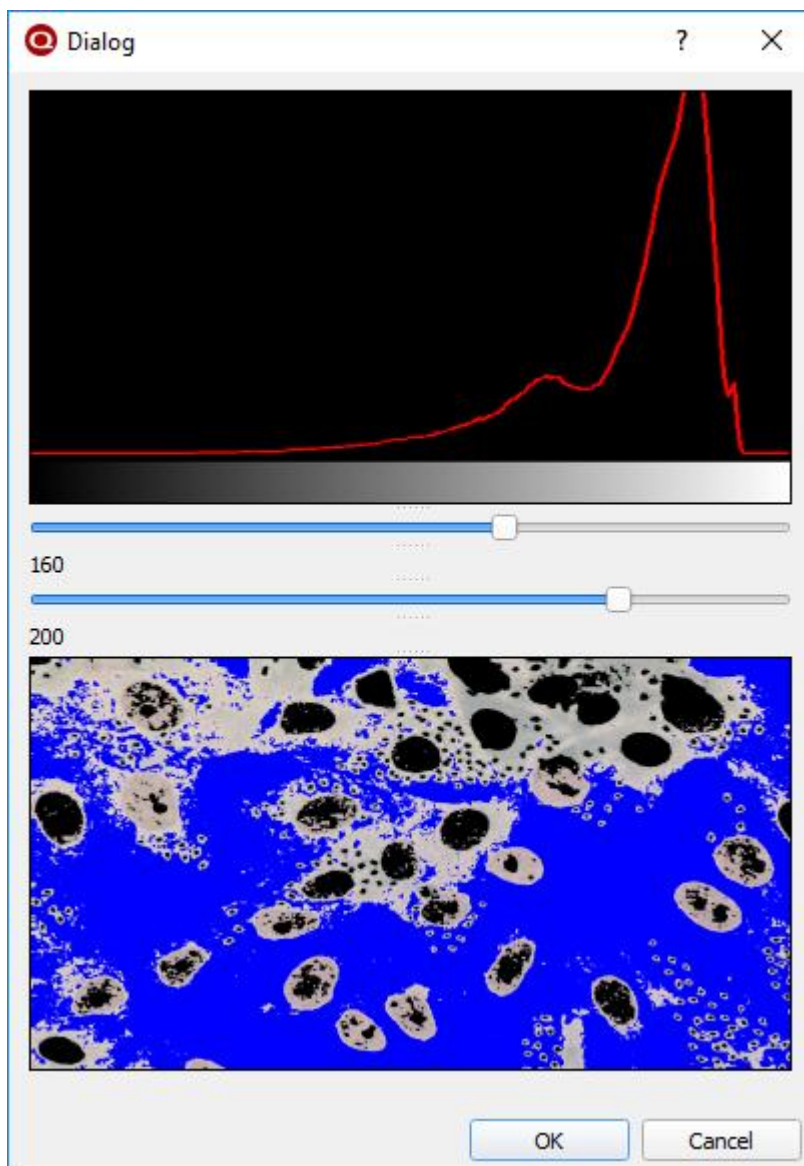


Figura 4.9 - Exemplo de aplicação da limiarização de uma imagem no Quanta.

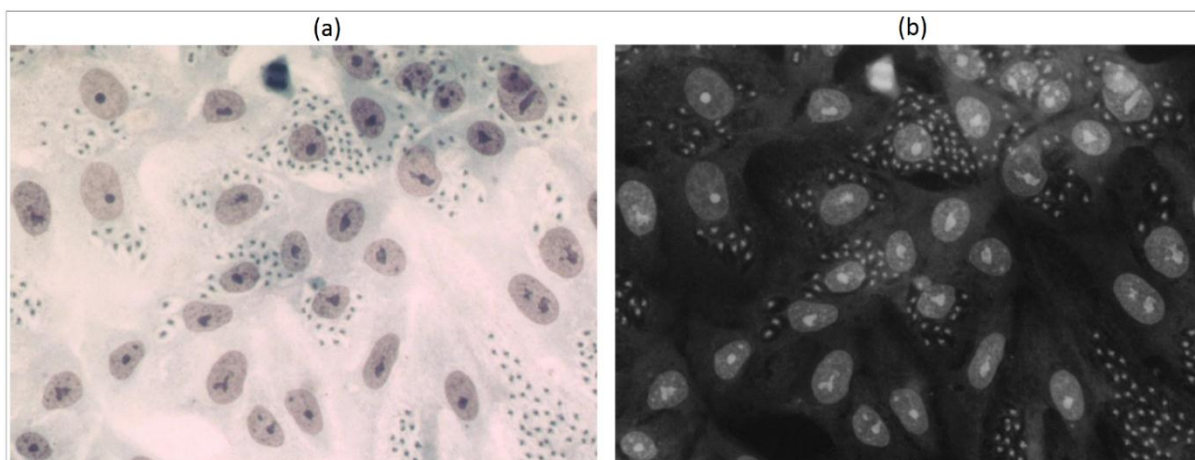


Figura 4.10 - Exemplo de aplicação da operação de negativa no Quanta. (a) imagem original; (b) resultado da operação.

4.2.6 Brilho e contraste

Para ajustar o brilho e contraste de uma imagem no Quanto, deve-se acessar o menu Ferramentas → Brilho e Contraste. Posteriormente, é necessário adequar os dois recursos através dos *sliders* disponíveis em uma “janela” auxiliar, que possui também uma prévia do resultado da operação. A tela de ajuste de brilho e contraste é ilustrada na Figura 4.11.

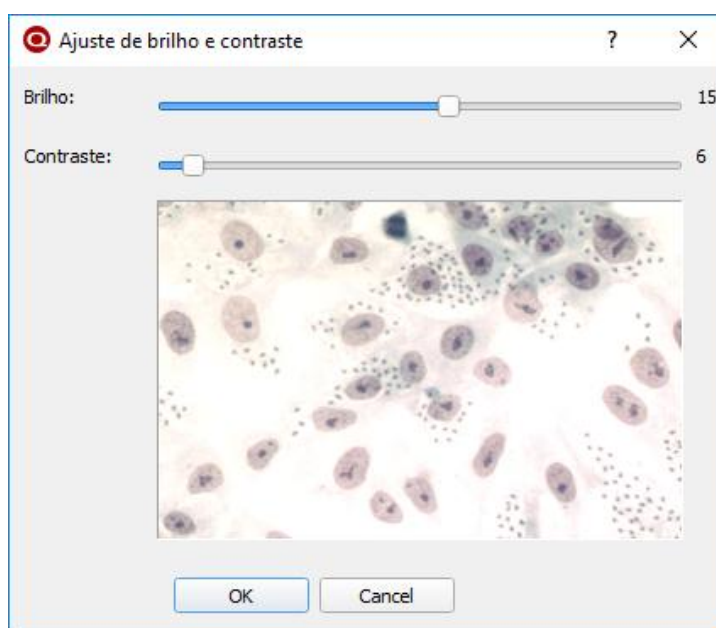


Figura 4.11 - Janela de ajuste de brilho e contraste.

4.2.7 Operações lógicas e aritméticas

As operações lógicas e aritméticas implementadas no Quanto permitem que sejam realizadas as operações aritméticas: adição e subtração, além das operações lógicas: E, NÃO, OU e OU exclusivo em imagens. Para isto é necessário acessar uma destas opções no menu Ferramentas → Operações e então será exibida a tela mostrada na Figura 4.12. Nesta tela são mostradas as últimas seis alterações feitas em imagens no programa e ainda existem dois espaços disponíveis para que sejam carregadas novas imagens do arquivo, as quais estarão disponíveis para se realizar a operação desejada. Para indicar as imagens que irão participar da operação, deve-se clicar na figura escolhida e arrastá-la ao respectivo campo. A prévia da operação é mostrada no campo inferior direito para que o usuário veja o resultado antes de aplicá-lo. É importante ressaltar que estas operações requerem que as duas imagens sejam do mesmo tamanho.



Figura 4.12 - Janela de operações lógicas e aritméticas.

4.2.8 Filtros

Para acessar os filtros no Quanto, o usuário deverá acessar o menu Filtros e então escolher entre os filtros passa alta e passa baixa. Em todos os casos, independentemente do filtro escolhido, será carregada uma pequena “janela” solicitando a máscara que deverá ser considerada para aplicar a operação. A Figura 4.13 exibe a tela referida para o filtro mediana. Em todos os filtros esta tela segue o mesmo padrão.

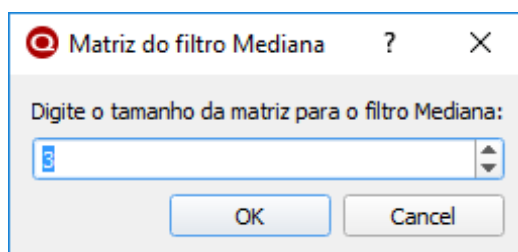


Figura 4.13 - Tela de configuração da máscara para executar um determinado filtro.

4.2.8.1 Filtros passa alta

Os filtros passa alta disponíveis no software são: Sobel, Laplaciano e Canny. Todos eles são voltados a detecção de bordas. O resultado da aplicação dos três filtros no Quanto, todos com máscaras de 3x3 e sem nenhum tratamento prévio, é mostrado na Figura 4.14. Nota-se, claramente, que o filtro Canny foi mais afetado pelos ruídos da imagem e que o filtro Sobel foi o que apresentou resultado mais nítido.

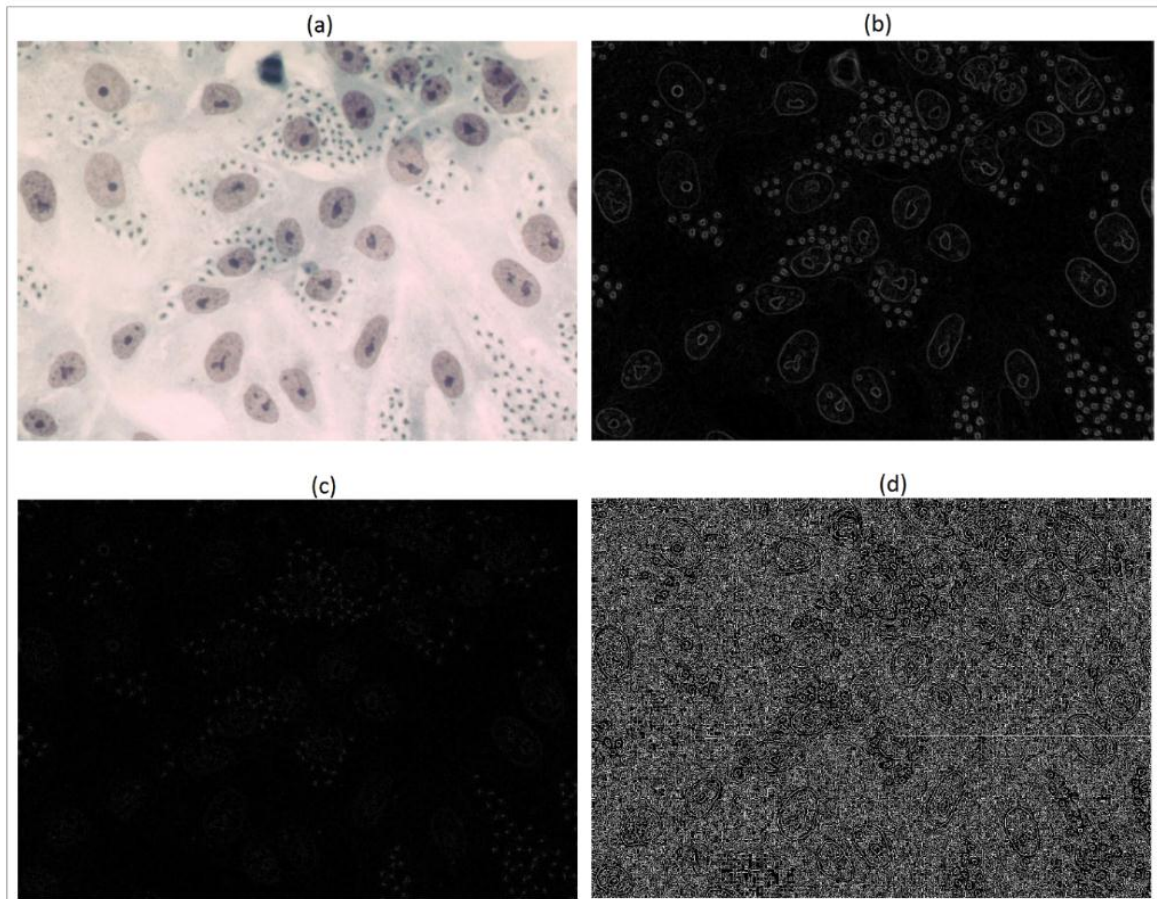


Figura 4.14 - Exemplo de aplicação dos filtros passa alta no Quanto com máscara de 3x3. (a) imagem original; (b) resultado da aplicação do Sobel; (c) resultado da aplicação do Laplaciano; (d) resultado da aplicação do Canny.

4.2.8.2 Filtros passa baixa

Os filtros passa baixa disponíveis no software são Média, Mediana e Gaussiano. Todos eles são voltados a suavização de imagens. O resultado da aplicação dos três filtros no Quanto, todos com máscaras de 9x9, é mostrado na Figura 4.15.

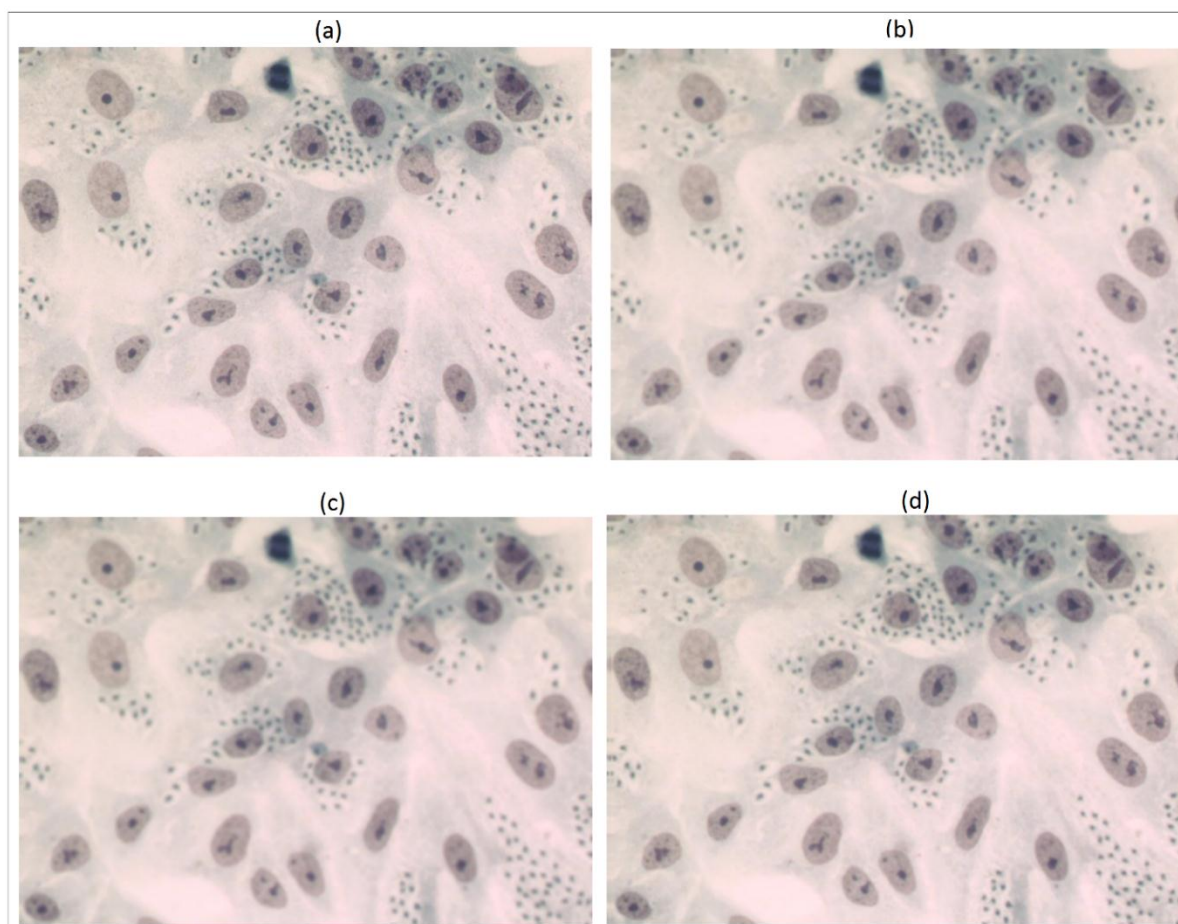


Figura 4.15 - Exemplo de aplicação dos filtros passa baixa com máscaras de 9x9. (a) imagem original; (b) resultado da aplicação do filtro média; (c) resultado da aplicação da mediana; (d) resultado da aplicação do filtro Gaussiano.

Ao se analisar visualmente o resultado da aplicação dos filtros passa baixa demonstrados na Figura 4.15, não são encontradas muitas diferenças aparentes. Entretanto, estes filtros são de extrema importância para o tratamento de imagens, conforme explicado na Seção 2.3.5.2. Somente para critério de comparação, o filtro Sobel foi executado com máscara 3x3 após serem realizadas duas operações de suavização com o filtro mediana utilizando máscaras de 9x9. O resultado desta operação pode ser visto na Figura 4.16. Nota-se que a suavização da imagem antes de executar a detecção de bordas melhora consideravelmente seu resultado reduzindo os ruídos. É importante ressaltar que esta é apenas uma das aplicações possíveis dos filtros de suavização, que possuem diversas outras aplicações com bons resultados (Gonzalez e Woods, 2000; Jesus e Costa Junior, 2015; Trucco e Verri, 1998).

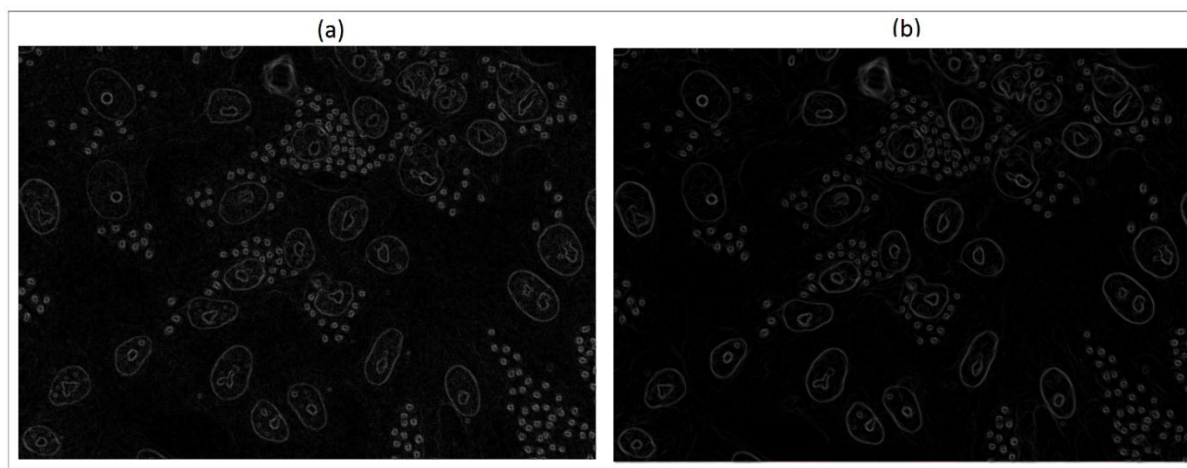


Figura 4.16 - Resultado da operação de filtro Sobel antes e após a execução do filtro de suavização mediana. (a) Filtro Sobel aplicado sobre a imagem original; Filtro Sobel aplicado após duas execuções do filtro mediana com máscaras 9x9.

4.2.9 Contagem de partículas

Com o intuito de ampliar o número de pessoas aptas a utilizar o Quanto e aumentar o conforto em seu uso, o processo de contagem foi implementado para ser executado de forma simples e intuitiva, sem exigir do usuário qualquer conhecimento relacionado a edição ou segmentação de imagens.

Para proceder a contagem, primeiramente o usuário deverá incluir os tipos desejados na aba “Contar partículas”, presente no painel lateral de funcionalidades, no lado esquerdo da tela inicial do programa (Figura 4.1). Nesta parte é possível incluir até dez tipos diferentes de elementos para serem contados e, caso o usuário deseje, poderá também excluir algum tipo indesejado. A Figura 4.17 exhibe o painel lateral de funcionalidades com destaque nos botões para incluir (botão com o símbolo “+”) e excluir tipos (botão com símbolo “-”). Nota-se que, ao abrir o Quanto, já existe por padrão um tipo denominado “Tipo 1”. Este tipo está presente somente para melhorar o entendimento do software e será alterado assim que for incluído o primeiro tipo.



Figura 4.17 - Parte do painel de funcionalidades presente no lado esquerdo da tela inicial do Quanto com destaque nos botões incluir e excluir tipos.

Ao clicar no botão para incluir um tipo, aparecerá uma pequena “janela” solicitando o nome deste tipo, exibida na Figura 4.18. Após escrever o nome desejado e clicar em “ok” o tipo será incluído e estará disponível para ser utilizado na contagem. É importante ressaltar que a inclusão ou exclusão dos tipos não depende de ter uma imagem carregada no programa, podendo, portanto, ser realizada antes ou depois de abrir a imagem.

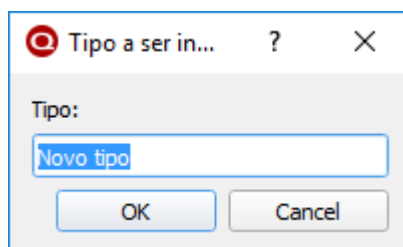


Figura 4.18 - Tela para informar o tipo a ser incluído.

Após incluir todos os tipos desejados, poderá ser iniciada efetivamente a contagem das partículas, de acordo com seus respectivos tipos. Para isto é necessário clicar no botão “Iniciar”, destacado na Figura 4.19. Este botão será habilitado assim que o usuário carregar uma imagem no programa e, ao ser pressionado, ativa o Quanto para realizar a contagem, que pode ser feita de forma manual ou automatizada. Os dois tipos de contagem são apresentados seções 4.2.9.1 e 4.2.9.2, respectivamente.

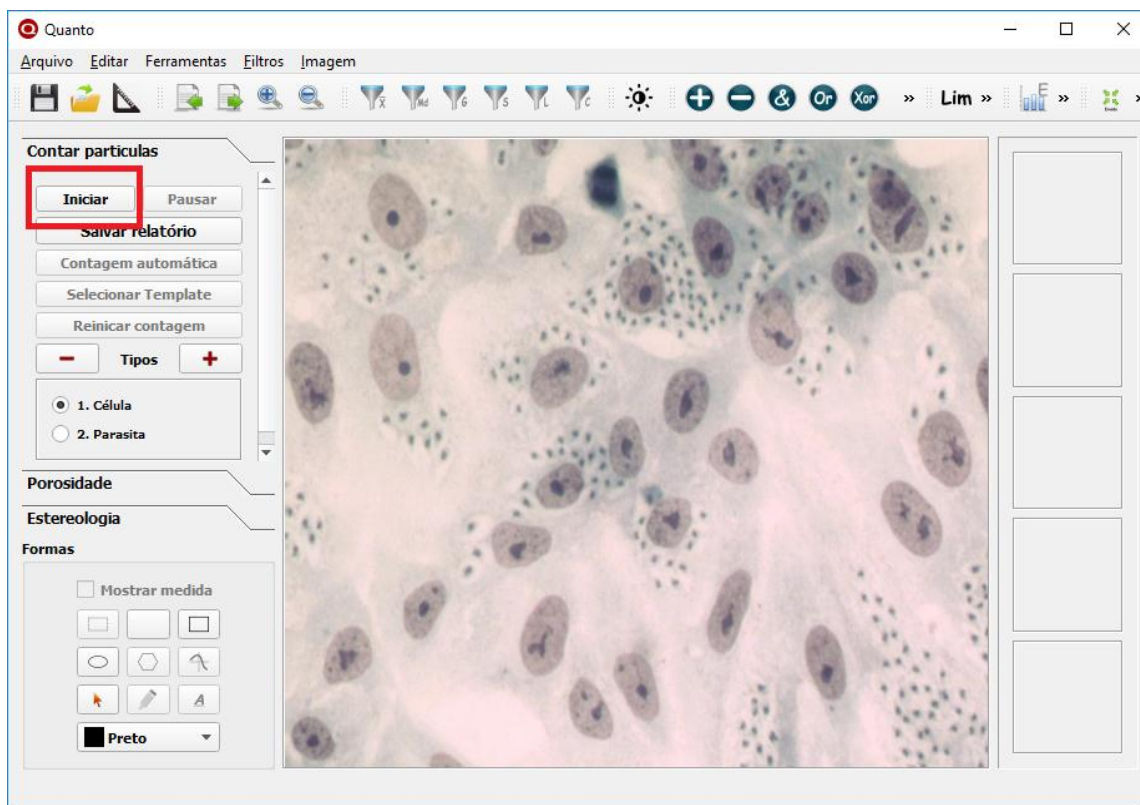


Figura 4.19 - Tela principal do Quanto com destaque no botão iniciar.

4.2.9.1 Contagem manual

O processo de contagem manual no Quanto é feito basicamente utilizando o mouse, de forma consideravelmente simples. Após incluir os tipos desejados, carregar a imagem e clicar no botão iniciar, o programa ficará aguardando que o usuário clique em cima de cada item a ser contabilizado. Ao clicar em um item, o mesmo será contabilizado para o tipo que estiver selecionado no painel de funcionalidades, presente no lado esquerdo da tela inicial do software. Por exemplo, para contar células em uma imagem que contenha células e parasitas, após incluir os respectivos tipos e iniciar a contagem, o usuário deverá selecionar o tipo relacionado às células e clicar em todas as células presentes na imagem. Desta forma, todas as células serão contabilizadas. Para contar os parasitas, o mesmo processo deve ser feito, mas com o tipo de parasita selecionado.

Para evitar falhas e melhorar o entendimento do processo, o Quanto marca cada ponto contabilizado com um pequeno retângulo de 8x8 pixels. Estas marcas possuem cores diferentes para cada tipo, diferenciando os mesmos na visualização. Além das cores, um número também é adicionado, funcionando como um índice para

cada tipo. Este índice está presente também no painel lateral de funcionalidades, facilitando sua identificação.

A Figura 4.20 exibe a tela do Quanto com a contagem de células e parasitas em uma imagem. As células foram incluídas com índice “1” e receberam a marcação vermelha, enquanto os parasitas receberam o índice “2” e receberam a marcação azul. A cada clique realizado nas células e parasitas na imagem, seu respectivo tipo foi incrementado e o somatório da contagem é mostrado na frente de cada tipo, antecedido pelo símbolo “#”, comumente utilizado para indicar valores em softwares.

Nota-se que, de acordo com a contagem demonstrada na Figura 4.20, a imagem utilizada possui 30 células e 239 parasitas.

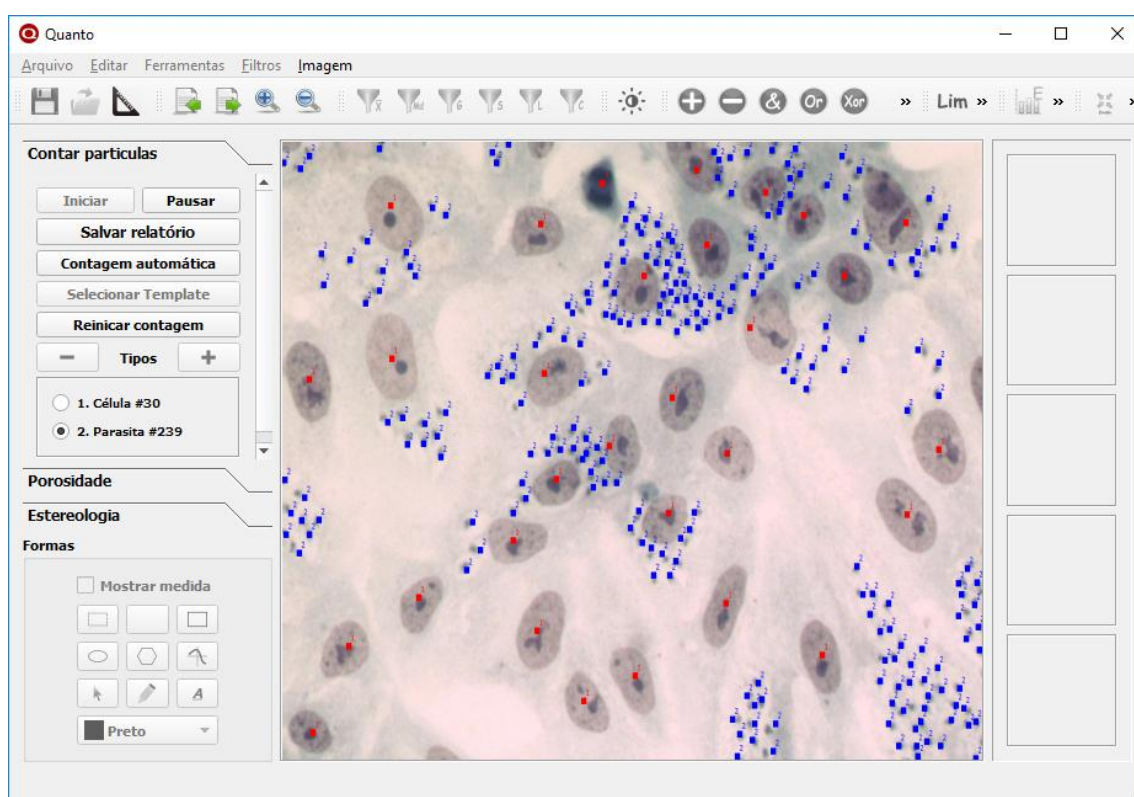


Figura 4.20 - Processo de contagem manual no Quanto.

Ao realizar testes com o Quanto, foi identificado que muitas vezes será necessário desfazer a contagem de um único item, sem reiniciar a contagem inteira. Esta operação pode ser necessária por variados motivos, como por exemplo um item contabilizado de forma incorreta, ou a necessidade de conferir aquele item. Diante disto, o programa permite realizar esta operação com apenas um clique. Para desfazer a contagem de um item, basta clicar com o botão direito do mouse em cima da sua marcação. Assim, este será desmarcado e desconsiderado da contagem. Independentemente do tipo que estiver selecionado, o Quanto identifica qual ponto que foi

clicado com o botão direito do mouse e retira aquele ponto da contagem, decrementando uma unidade no respectivo tipo. Também é possível reiniciar a contagem inteira clicando no botão “reiniciar contagem”, desta forma toda contagem será zerada, reiniciando este processo.

Ao terminar o procedimento de contagem em uma imagem, o usuário poderá selecionar a opção “Próxima imagem”, presente no menu Imagem → Próxima imagem. Ao selecionar esta opção, a contagem concluída será salva no diretório “*Quanto Projects*” com o mesmo nome da imagem analisada, porém com extensão “qto”. A pasta “*Quanto Projects*” é criada pelo programa no diretório da imagem carregada. Após salvar o arquivo, o Quanto carrega automaticamente a próxima imagem para que seja procedida a contagem com os mesmos tipos, mas o usuário poderá alterá-los caso deseje. Este comportamento foi implementado porque, conforme identificado na fase de definição dos requisitos, na maioria dos casos são realizadas várias contagens com imagens do mesmo padrão.

Para evitar falhas, assim que uma contagem é iniciada, todas as funcionalidades de tratamento e segmentação de imagens são desabilitadas. Caso seja necessário fazer uso destes recursos, é possível pausar a contagem clicando no botão “pausar”, então estas funções são novamente reestabelecidas. Isto permite que o usuário continue a contagem quando desejar, clicando novamente no botão “iniciar”.

4.2.9.2 Contagem automatizada

A contagem automatizada não foi implementada para substituir o processo de contagem manual, mas sim para auxiliar este procedimento, aumentando a produtividade. Para utilizar este recurso, deve-se clicar no botão “Contagem automática”, presente no painel de funcionalidades.

Ao selecionar a contagem automática, será gerada uma nova tela com a imagem carregada. Ao abrir esta tela, o programa fica aguardando a seleção de um *template*, que irá servir como base para encontrar elementos semelhantes na imagem. Portanto, ao selecionar uma parte da imagem, o software encontrará automaticamente elementos que tenham as mesmas características do *template* selecionado, seguindo uma correlação estatística.

O critério de correlação estatística pode ser alterado de acordo com as necessidades por meio do *slider* acima da imagem. Ao se aumentar o valor deste *slider*, a tendência é que sejam encontrados menos elementos, pois somente aqueles que possuírem maior semelhança com o *template* serão aceitos. Ao se diminuir o critério de

correlação acontece o efeito inverso, pois serão aceitos elementos com menor semelhança, logo, há uma tendência de que sejam encontrados mais elementos na imagem.

O Quanto permite que o *template* seja selecionado quantas vezes forem necessárias. Este recurso, aliado a possibilidade de se alterar o critério de correlação, permite que sejam feitos diversos ajustes para encontrar o maior número de elementos possível, respeitando um nível de precisão aceitável.

A Figura 4.21 mostra a tela de contagem automatizada após selecionar um *template* e ajustar a correlação de modo a encontrar o maior número de células possível. As regiões marcadas com um retângulo são aquelas que o programa selecionou para serem adicionadas à contagem, pois foram consideradas semelhantes ao *template*.

Após clicar em “Ok”, o Quanto retorna para a tela principal, continuando com a contagem manual. Todos estes elementos marcados com o retângulo na contagem automática aparecem incluídos, contabilizados e marcados exatamente da mesma forma daqueles feitos na contagem manual, podendo ser excluídos. Cabe ressaltar que também é possível incluir novos pontos.

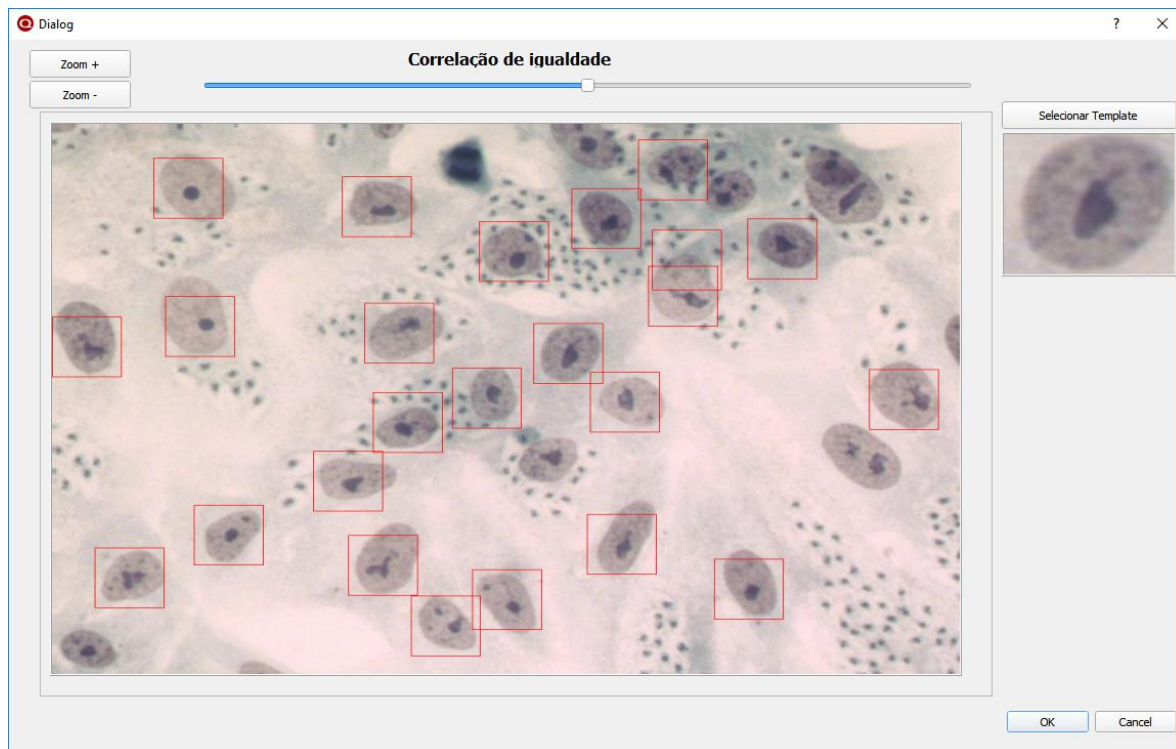


Figura 4.21 - Tela de contagem automatizada no Quanto após selecionar o *template* e ajustar a correlação.

Ao analisar a Figura 4.21, nota-se que, entre as trinta células contadas no processo manual, vinte e três foram encontradas automaticamente, sendo que uma aparece em duplicidade. Esta quantidade representa 77% de todas as células presentes na imagem, reduzindo consideravelmente o trabalho para a contagem manual, pois, após o processo automatizado, somente será necessário clicar nas sete células que não foram encontradas no processo automatizado e retirar um ponto duplicado.

A Figura 4.22 mostra a tela principal do Quanto com a contagem somente das células encontradas automaticamente. Esta tela foi exibida imediatamente após se clicar no botão “Ok”, presente na tela de contagem automatizada no estado encontrado na Figura 4.21.

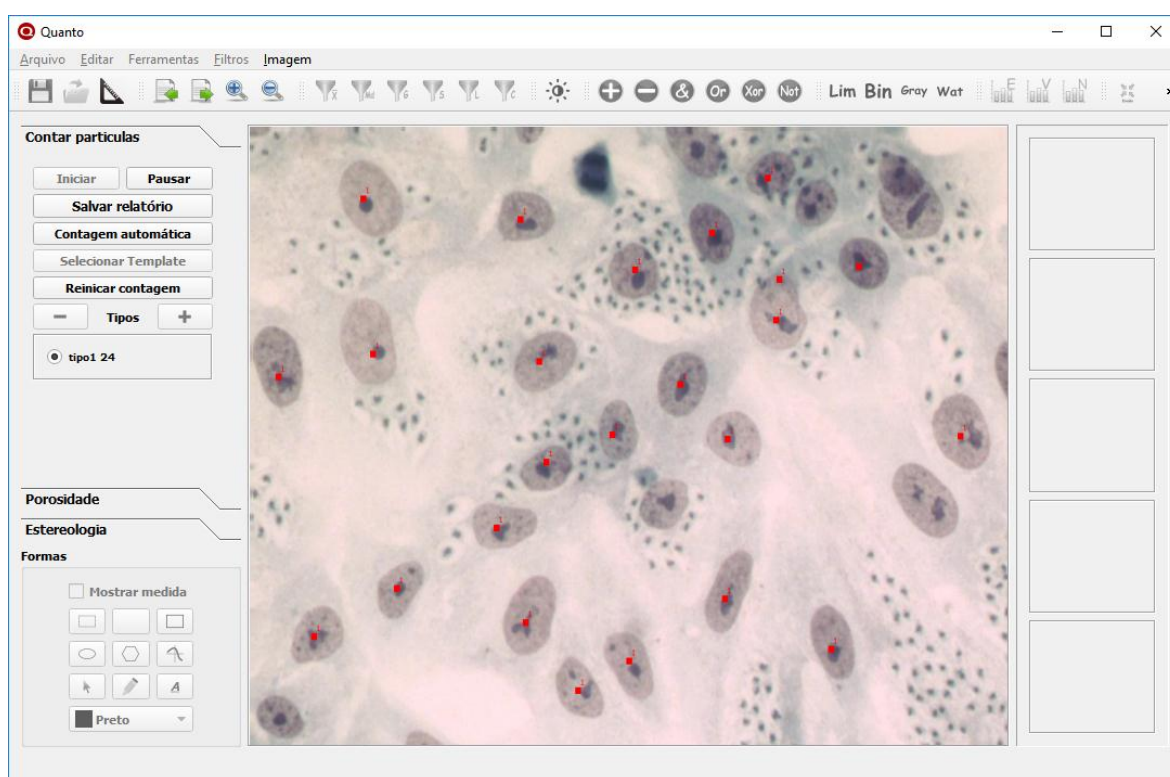


Figura 4.22 - Tela principal do Quanto após utilizar o processo de contagem automatizada.

O processo automatizado de contagem demonstrou bons resultados mesmo sendo realizado com uma imagem sem nenhum tratamento ou segmentação. Todavia, ainda é possível melhorar estes resultados ao se realizar alguns tratamentos na imagem antes de submetê-lo a este procedimento. Para evidenciar esta melhora, a imagem utilizada na Figura 4.21 foi submetida a duas execuções do filtro de suavização mediana antes de passar para o processo de contagem automatizada. Este tratamento simples aumentou a quantidade de células encontradas de 23 para 25 células e não apresentou nenhuma duplicidade, comprovando a melhora no resultado. Neste

caso, foi utilizado um tratamento bem simples utilizando somente um filtro de suavização. Acredita-se que tratamentos e segmentações mais elaborados podem trazer resultados ainda melhores para a contagem automatizada, dependendo do tipo de imagem que será analisada.

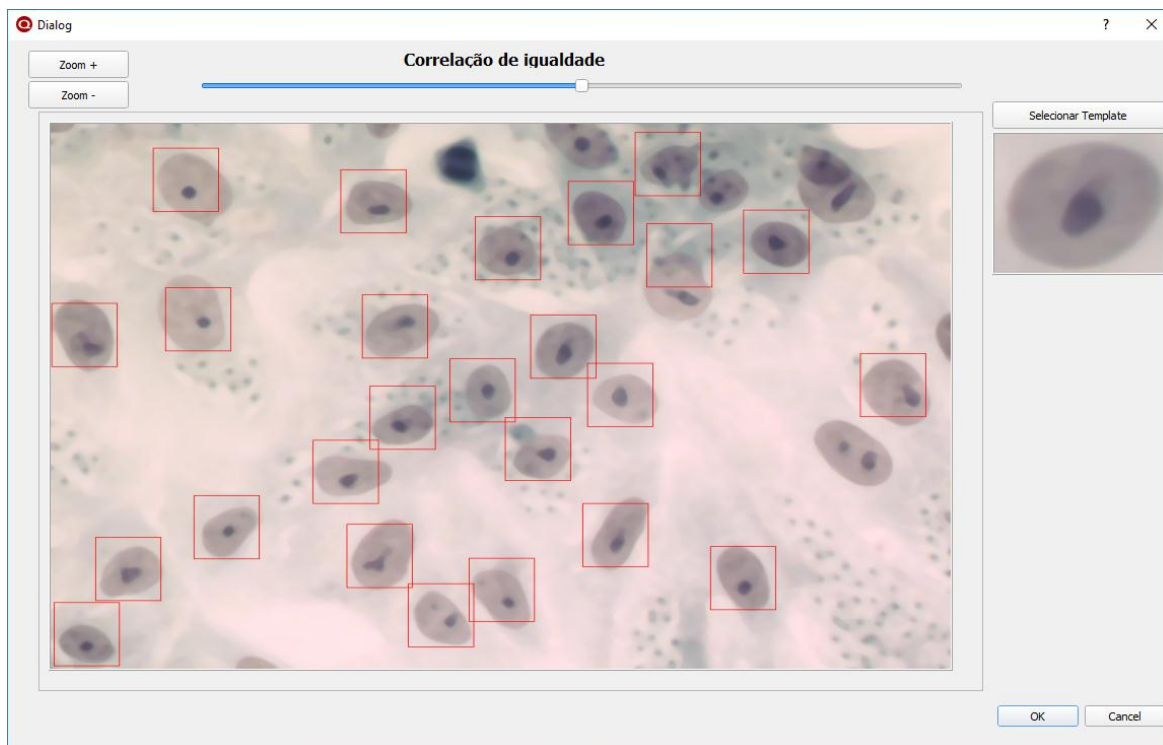


Figura 4.23 - Contagem automatizada realizado em uma imagem após duas execuções do filtro mediana com máscara de 9x9.

4.2.10 Gerar relatório

O relatório gerado pelo Quanto consiste em um arquivo com extensão “csv” que pode ser aberto nos softwares de planilhas eletrônicas e possui todos os dados de contagens realizadas no programa, além das fórmulas para somatório e desvio padrão dos valores. Para gerar o relatório, necessita-se clicar no botão “Salvar relatório”, presente no painel lateral de funcionalidades na aba contagem de partículas. Ao realizar esta operação, será solicitado que o usuário indique a pasta onde os arquivos salvos pelo Quanto com extensão “qto” se encontram. Após indicar o diretório, será gerado, automaticamente, o relatório de todos os arquivos com extensão “qto” existentes na pasta. A Figura 4.24 exibe um relatório gerado pelo Quanto após a contagem de quatro imagens.

	A	B	C	D	E
1	Imagem	1. Célula	2. Parasita		
2	Imagem 1	30	239		
3	Imagem 2	25	210		
4	Imagem 3	33	266		
5	Imagem 4	18	111		
6	Total	106	826		
7	Desvio Padrão	6,557438524	67,64860186		
8					
9					
10					
11					

Figura 4.24 - Relatório gerado pelo Quanto.

4.2.11 Medições estereológicas

O Quanto foi desenvolvido para auxiliar o usuário em atividades diversas que envolvam contagem de elementos em imagens. Diante disto, foi identificado que algumas medições estereológicas que normalmente são realizadas manualmente necessitam da contagem de elementos, interceptos e pontos nas imagens para então proceder os devidos cálculos. Assim, três medições estereológicas que envolvem contagem de elementos foram implementadas para que sejam realizadas de forma simples e rápida. A Figura 4.25 apresenta o painel lateral de funcionalidades do Quanto na aba “*Estereologia*”, na qual os três botões relacionados às medições estereológicas estão presentes.

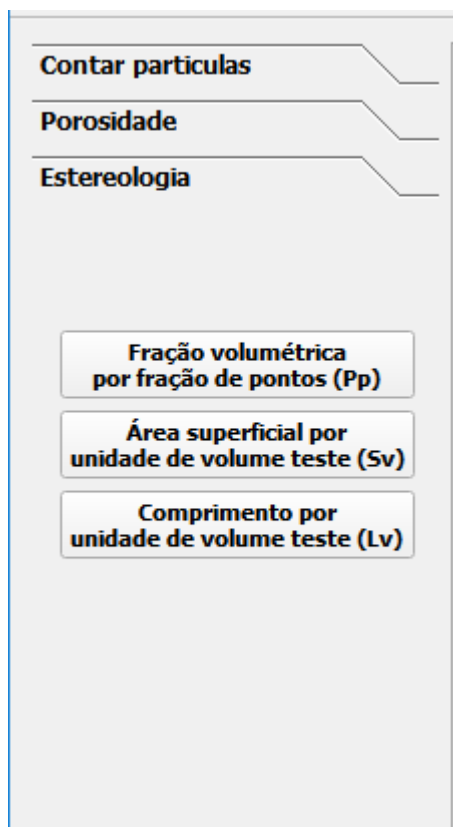


Figura 4.25 - Aba "Estereologia" do painel lateral de funcionalidades com os botões relacionados às medições estereológicas.

4.2.11.1 Fração volumétrica por fração de pontos

Para realizar o cálculo da fração volumétrica o usuário primeiramente deverá binarizar a imagem utilizando as opções de segmentação existentes no programa. Após a imagem estar binarizada, basta clicar no botão "*Fração volumétrica por fração de pontos (P_p)*", presente no painel lateral de funcionalidades na aba "Estereologia" e o programa irá mostrar uma nova janela com os valores relacionados ao cálculo. A Figura 4.26 apresenta a tela do Quanto e a janela de resultado ao se realizar o cálculo da fração volumétrica por fração de pontos.

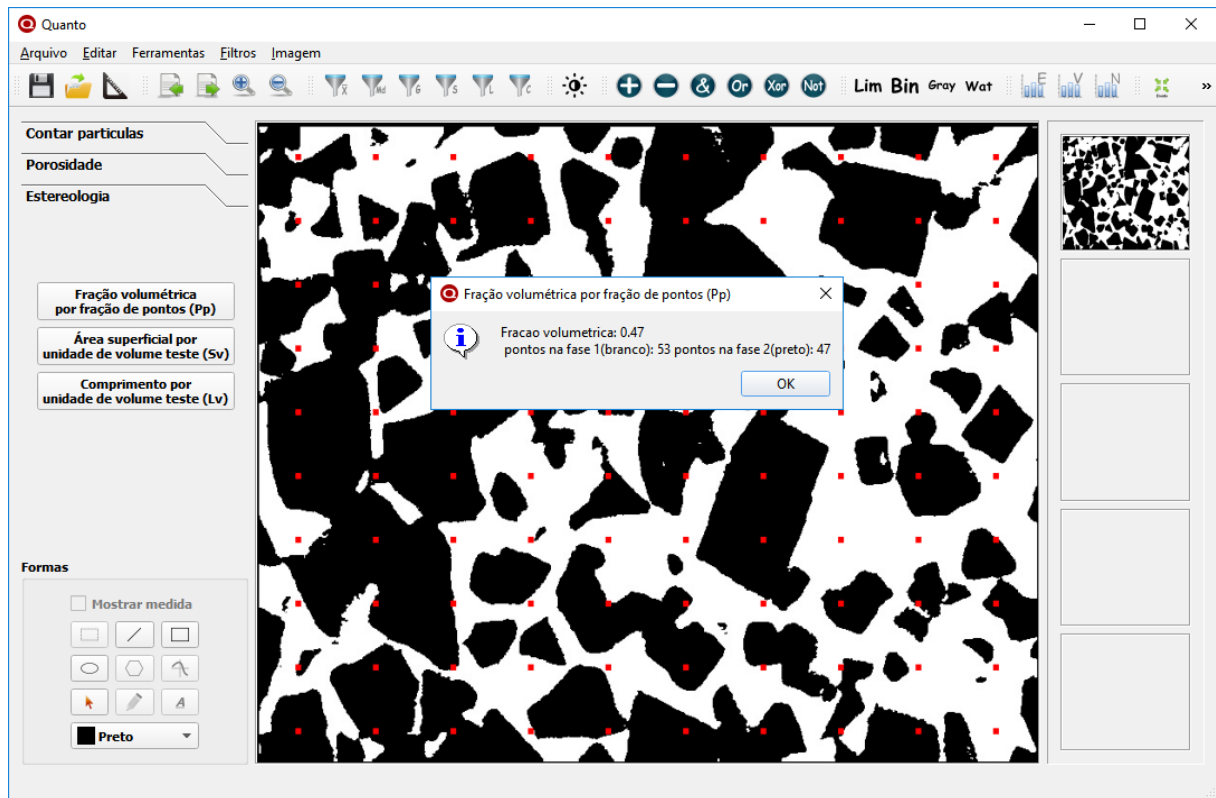


Figura 4.26 - Tela do Quanto ao se realizar o cálculo de fração volumétrica por fração de pontos.

4.2.11.2 Área superficial por unidade de volume teste

Para realizar este cálculo o usuário primeiramente deverá definir uma escala e binarizar a imagem. Após este processo, ao clicar no botão “Área superficial por unidade de volume teste (S_V)”, o programa irá mostrar uma nova janela com os valores relacionados ao cálculo e a imagem com as linhas traçadas e marcadas nos respectivos interceptos. A Figura 4.27 apresenta a tela do Quanto e a janela de resultado ao se realizar o cálculo da área superficial por unidade de volume teste. É importante ressaltar que foi utilizada uma escala hipotética de 10mm a cada 100 pixels para cálculo de S_V e L_V .

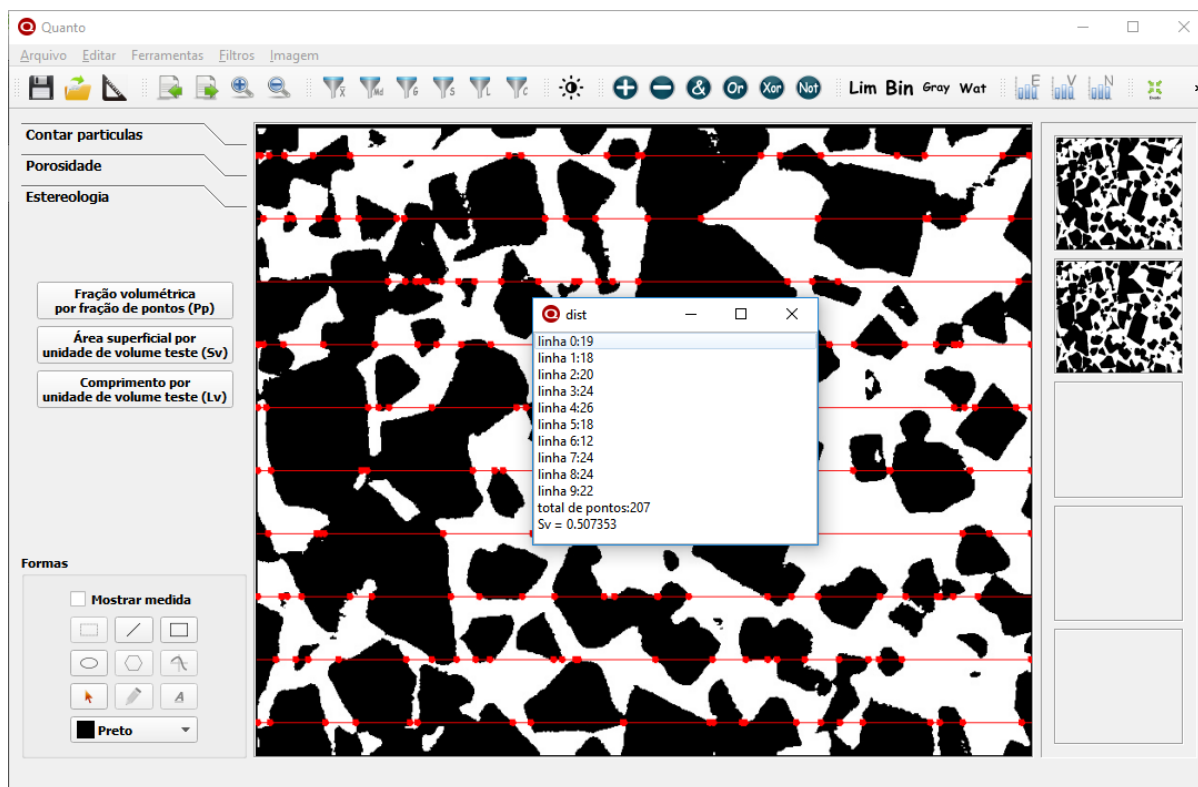


Figura 4.27 - Tela do Quanto ao se realizar o cálculo da área superficial por unidade de volume teste.

4.2.11.3 Comprimento por unidade de volume teste

Para realizar o cálculo do comprimento por unidade de volume teste, o usuário primeiramente deverá definir uma escala e binarizar a imagem. Após este processo, ao clicar no botão “*comprimento por unidade de volume teste (L_V)*”, o programa irá mostrar uma nova janela com os valores relacionados a quantidade de pontos encontrados na imagem e o cálculo de L_V . A Figura 4.28 apresenta a tela do Quanto e a janela de resultado ao se realizar o cálculo do comprimento por unidade de volume teste.

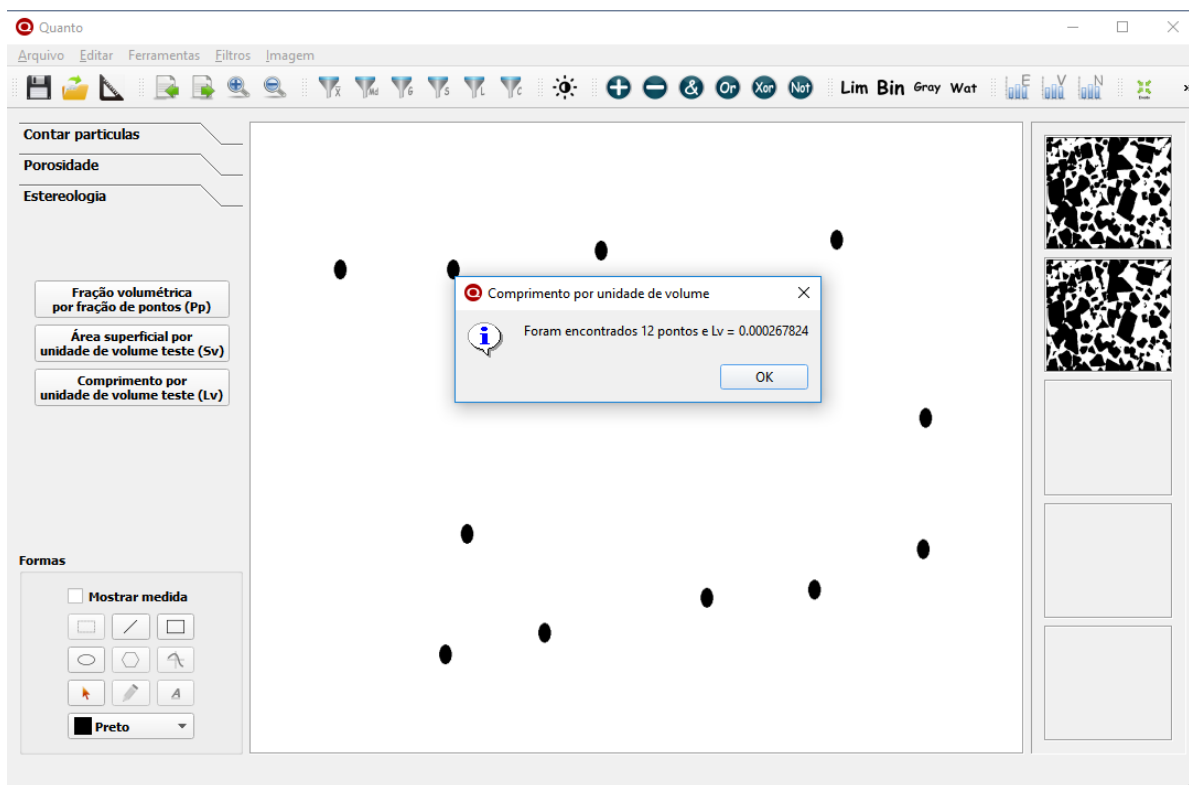


Figura 4.28 - Tela do Quanto ao se executar o cálculo do comprimento por unidade de volume teste.

5 ESTUDOS DE CASO

Para analisar a eficácia e eficiência do Quanto, o programa foi submetido a testes em situações reais de uso em laboratório e os resultados foram comparados com os métodos tradicionais em aspectos como tempo, precisão, confiabilidade, ergonomia, simplicidade de uso, reprodutibilidade e outros. Desta forma, foi possível identificar os reais benefícios que o software pode trazer em relação aos métodos tradicionais de contagens de partículas.

5.1 Contagem de células e parasitas

O Quanto foi utilizado na prática para fazer a contagem de células e parasitas do *Trypanossoma cruzi* e *Toxoplasma gondii* no setor de toxicologia do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual da UENF. Para este experimento, o software foi instalado nos computadores do laboratório e os pesquisadores foram instruídos do procedimento de utilização e das funcionalidades do programa. Com o intuito de registrar os dados de uso, foi passado um questionário com perguntas acerca dos procedimentos e experiências do uso do Quanto e comparações entre o método tradicional de contagem manual sem uso de softwares e o novo método proposto.

5.1.1 Etapas do processo de contagem

A Figura 5.1 exibe o fluxograma das etapas de contagem por meio do procedimento tradicional, sem o uso de softwares, e por meio do método proposto neste trabalho, utilizando o Quanto. Nota-se que muitas etapas são comuns e precisam ser feitas nos dois tipos de contagem, haja vista que, mesmo sem utilizar programas de auxílio na contagem, já era necessário capturar fotos das amostras para que estas possam ser verificadas posteriormente.

A grande diferença entre os dois procedimentos começa a partir do momento de realizar a contagem efetivamente. Diante disto, somente as etapas que possuem diferenças entre os dois métodos serão discutidas.

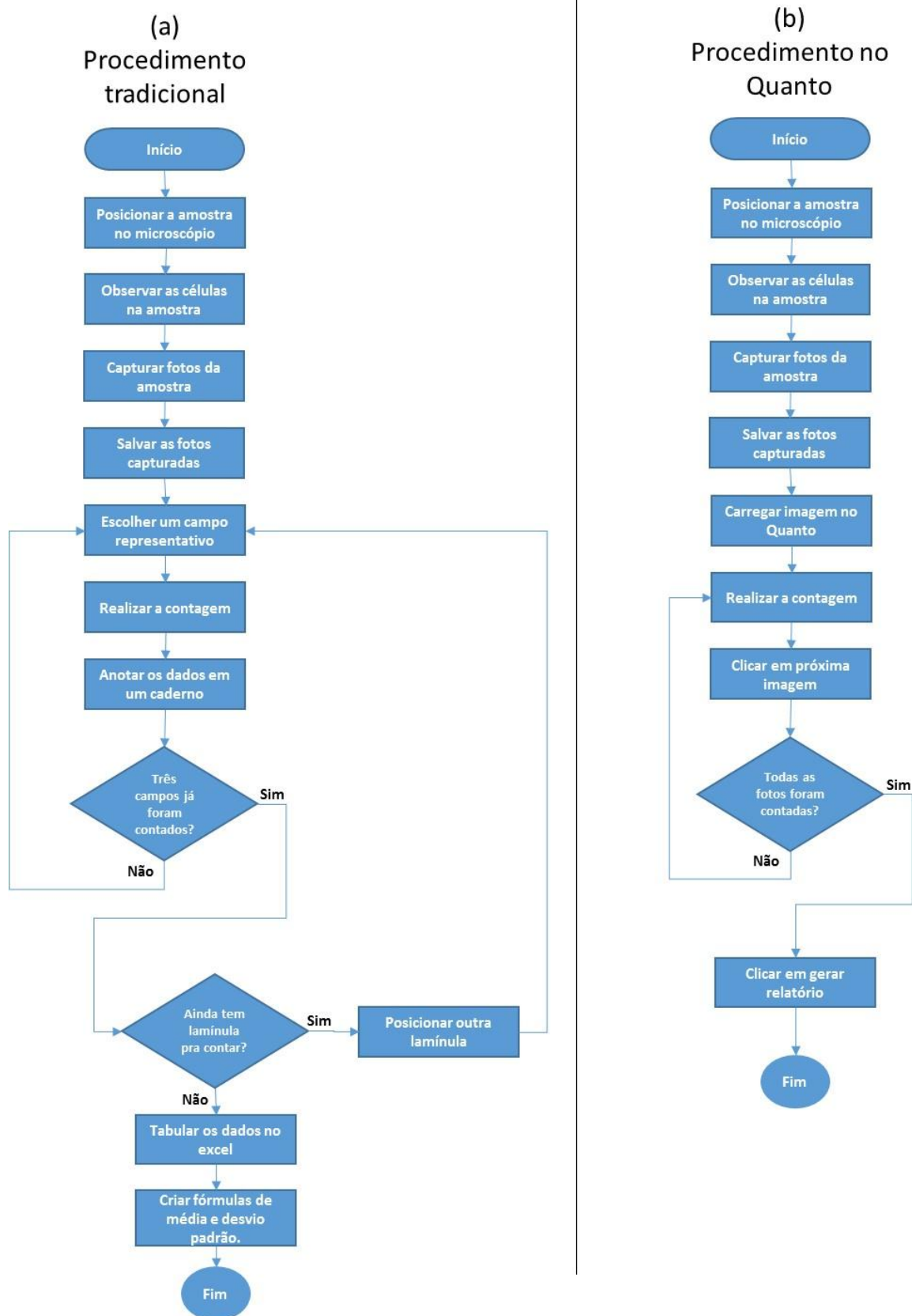


Figura 5.1 - Fluxogramas com as etapas necessárias para a contagem de células e parasitas, (a) procedimento tradicional; (b) procedimento utilizando o Quanto.

5.1.1.1 Escolher um campo representativo

A contagem no processo tradicional normalmente é feita em três campos de visão do microscópio em cada lamínula, utilizando aumento de 40x. A escolha destes campos de visão é feita de forma que eles sejam distantes para que uma mesma área não seja alisada mais de uma vez. Cabe ressaltar que, uma vez que a contagem no Quanto é feita nas imagens, esta etapa não se faz necessária. Todavia, estas imagens também devem ser obtidas em áreas diferentes da amostra, a fim de evitar a análise repetida da mesma área.

5.1.1.2 Carregar imagem no Quanto

Este processo está presente somente na contagem pelo Quanto e pode ser realizado com poucos cliques no programa, conforme mostrado na seção 4.1.

5.1.1.3 Realizar contagem

A grande diferença entre os métodos reside nesta etapa, em que é feita efetivamente a contagem dos elementos. O processo de contagem utilizando o Quanto pode ser manual ou automatizado, conforme descrito na seção 4.2.9. Entretanto, para estes experimentos, foi utilizada somente a funcionalidade de contagem manual do programa.

Os tempos foram medidos de acordo com a contagem de cada lamínula. De acordo com os pesquisadores, a quantidade necessária de fotos para a análise se tornar representativa depende da amostra que está sendo analisada. Para este experimento, foi identificado que, diante da quantidade de células e parasitas presente nas fotos, 9 fotos do *Trypanossoma cruzi* e 9 fotos do *Toxoplasma gondii* equivalem a três campos de visão do microscópio, portanto são suficientes para a verificação de uma lamínula. O Quadro 5.1 exibe os tempos demandados para a contagem de células e parasitas utilizando o Quanto nos experimentos realizados no LBCT – UENF.

Tipo de amostra	Aumento utilizado	Tempo médio por lamínula
Trypanossoma cruzi	40x	12 minutos
	20x	10 minutos
Toxoplasma gondii	40x	15 minutos
	20x	12 minutos

Quadro 5.1 - Tempos de contagem de células e parasitas utilizando o Quanto.

Por outro lado, o processo tradicional de contagem realizado no LBCT – UENF até então, é feito por um pesquisador olhando diretamente no microscópio e sem o

uso de qualquer tipo de software. Para registrar os dados no momento da contagem, utiliza-se unicamente um equipamento analógico chamado Contador Manual de Células, semelhante ao exibido na Figura 5.2. Este aparelho possui um visor para cada botão presente em sua parte inferior e, a cada vez que um botão é pressionado, uma unidade é incrementada no respectivo visor.

Desta forma, o pesquisador destina um botão do equipamento para cada elemento a ser contado (células infectadas, células não infectadas e parasitas) e, para cada elemento visualizado no microscópio, pressiona o respectivo botão no contador manual de células.



Figura 5.2 - Contador manual de células.

Ao realizar a contagem no procedimento tradicional, o operador precisa ficar longos períodos de tempo em uma única posição, com os olhos fixos no microscópio e com extrema concentração. Diante disto, este procedimento pode causar desconforto, possivelmente ocasionando falhas, além de possuir baixa reprodutibilidade, haja vista que a contagem não fica registrada para posterior averiguação.

Conforme relatos dos pesquisadores do laboratório, o tempo de contagem apresenta grande variabilidade, pois depende de vários fatores que vão desde a cultura a ser analisada até a questões do ambiente (nível de ruído no ambiente, nível de concentração entre outros). O Quadro 5.2 exhibe os tempos de contagem utilizando o método manual. Diante da incidência de luz no microscópio e tamanho das células e parasitas, este tipo de contagem é viável somente com aumento de 40x.

Tipo de amostra	Aumento utilizado	Tempo médio por lamínula
Trypanossoma cruzi	40x	25 minutos
Toxoplasma gondii	40x	30 minutos

Quadro 5.2 - Tempos de contagem do processo manual, sem uso de softwares.

Ao se considerar um ensaio experimental usual, em que são analisadas 6 lamínulas, gastam-se, em média, 2,5 horas contínuas de contagem no microscópio para

o *Trypanosoma cruzi* e 3 horas para o caso do *Toxoplasma gondii*. Entretanto, por questões de ergonomia, incidência de luz nos olhos a partir do microscópio, nível de concentração necessário, dentre outros fatores, não é possível realizar esta contagem de forma contínua. Desta forma, de acordo com a pesquisadora responsável, uma contagem por meio deste processo demanda aproximadamente dois dias de trabalho. A Figura 5.3 apresenta um comparativo entre os tempos médios de contagem no método tradicional e no método utilizando a funcionalidade de contagem manual do Quanto. Para esta comparação foi considerado aumento do microscópio de 40x no método tradicional e 20x no Quanto.

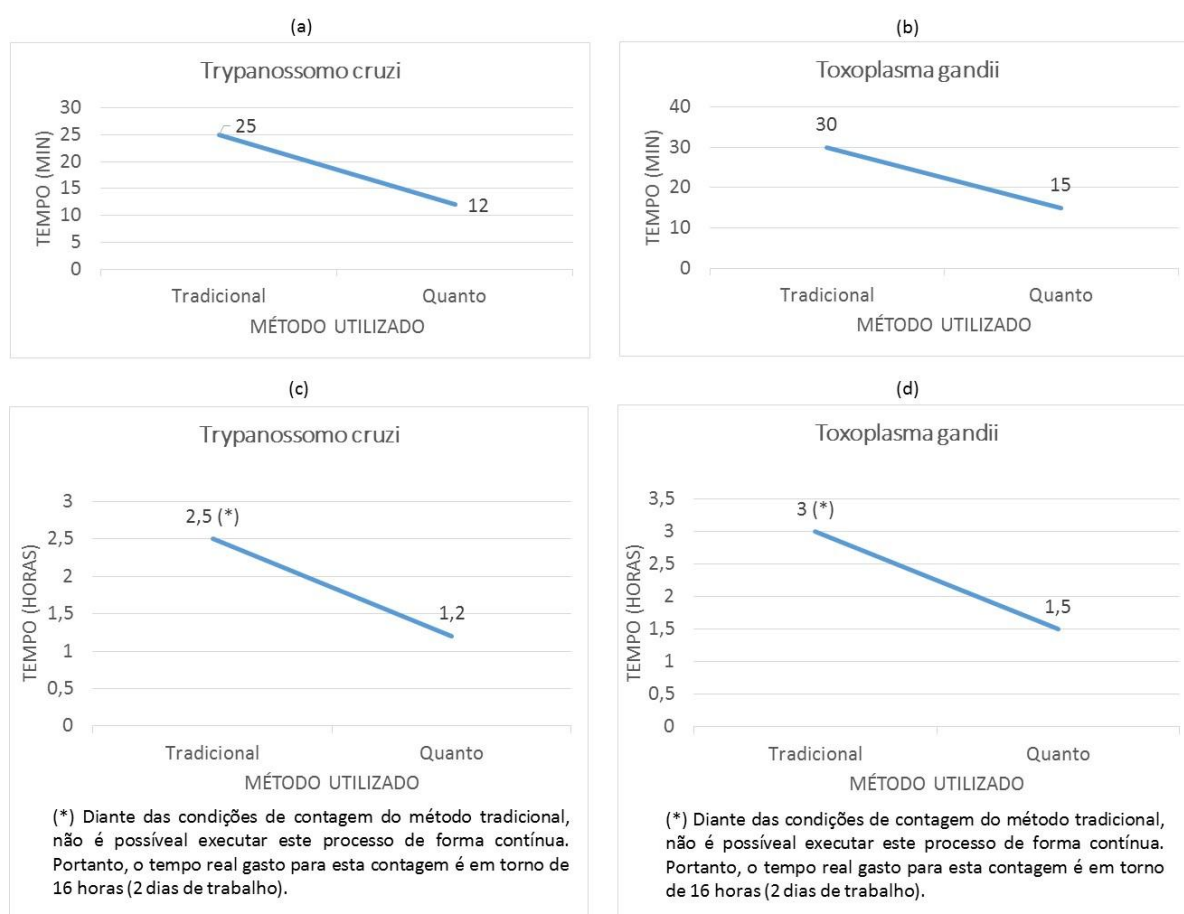


Figura 5.3 - Comparação entre os tempos médios de contagem manual pelo processo tradicional e a contagem manual pelo Quanto. (a) tempos de contagem de uma lamínula do tratamento com *Trypanosoma cruzi*; (b) tempos de contagem de uma lamínula do tratamento com *Toxoplasma gondii*; (c) tempos totais do ensaio com *Trypanosoma cruzi*; (d) tempos totais do ensaio com *Toxoplasma gondii*.

Ao se analisar os dados dos gráficos da Figura 5.3, nota-se que o novo método de contagem proposto com o uso do Quanto traz ganhos consideráveis em relação ao tempo de trabalho. Para o caso do tratamento com o *Trypanosoma Cruzii*, o tempo

de trabalho foi diminuído em 52% (2,5 horas para 1,2 horas) e para o tratamento com o *Toxoplasma gondii*, o tempo de trabalho foi diminuído em 50% (de 3 horas para 1,5 horas). Cabe ressaltar ainda que o tempo total de trabalho utilizando o método tradicional de contagem é consideravelmente maior do que estes supracitados, diante da impossibilidade de se permanecer muitas horas seguidas ao microscópio.

Além do tempo, outras questões foram avaliadas e comparadas entre os dois métodos de contagem. Para isto, após a realização da contagem no Quanto, a pesquisadora responsável pela contagem respondeu um questionário sobre as experiências com o aplicativo em relação a vários temas. Os aspectos em que o procedimento de contagem realizado no Quanto se diferem do procedimento tradicional, de acordo com as respostas do questionário, são:

- **Ergonomia:** Maior conforto diante da possibilidade de se realizar a contagem em cadeiras e mesas com alturas mais adequadas, além da possibilidade de parar a contagem em qualquer momento sem perder o trabalho realizado;
- **Precisão:** Como cada parasita e células contadas são assinalados e podem ser conferidos, a precisão dos resultados se torna consideravelmente maior em relação a contagem feita diretamente no microscópio, em que as únicas marcações são mentais, exigindo elevada concentração. Entretanto, não foi possível medir de forma quantitativa esta precisão;
- **Simplicidade dos métodos:** De acordo com os testes, o programa se mostrou simples e intuitivo, possibilitando uso após uma única demonstração.
- **Reprodutibilidade:** A pesquisadora afirma que a organização do *layout* do Quanto deixa em evidência as principais ferramentas a serem utilizadas, possibilitando o uso intuitivo, o que torna fácil de ser passado para outras pessoas;
- **Flexibilidade:** O Quanto tornou o trabalho de contagem mais flexível, haja vista que, com ele, é possível realizar a contagem em outros lugares além do laboratório;
- **Vantagens e desvantagens:** As principais vantagens do Quanto que foram apontadas para a contagem são: Possibilidade de se trabalhar em

outros lugares além do laboratório, padronização dos resultados, possibilidade de averiguação posterior a contagem e, principalmente, precisão e conforto, pois as limitações ergonômicas e a forte luz do microscópio muito tempo incidindo nos olhos quando se usa o procedimento tradicional são fatores limitantes que influenciam no tempo e precisão. Não foram apontadas desvantagens.

5.1.1.4 Geração de relatório

Conforme expresso na seção 4.2.10, o Quanto gera automaticamente um relatório de toda contagem realizada no programa, incluindo fórmulas de média e desvio padrão. Por outro lado, ao terminar cada contagem no método tradicional, é necessário que o pesquisador registre em um caderno os dados da contagem para que, ao final do ensaio, faça a tabulação dos dados em uma planilha eletrônica. Este procedimento manual demanda, em média, 20 minutos de trabalho e, conforme supracitado, não precisa ser executado quando a contagem é realizada no Quanto.

5.2 Contagem de produção de nematoides entomopatogênicos (NEPs)

O Quanto também foi utilizado na prática para fazer a contagem de NEPs. Este experimento foi realizado no Laboratório de Biologia da Faculdade Santa Marcelina (LabBio FASM). O software foi instalado nos computadores do laboratório e os pesquisadores foram instruídos sobre o procedimento de utilização e as funcionalidades do programa. Para possibilitar a comparação dos resultados, dois pesquisadores realizaram a contagem das mesmas amostras, um deles utilizou o procedimento tradicional, enquanto o outro utilizou o procedimento manual presente no Quanto.

Para a contagem de NEPs, após a preparação da cultura, que pode ser vista em Costa (2014), as etapas do procedimento tradicional e do método proposto utilizando o Quanto são semelhantes àqueles descritos na seção 5.1.1, de contagem de células e parasitas. As únicas diferenças entre as duas contagens são: o elemento a ser contado, a quantidade de campos de visão do microscópio a serem analisados (para o caso dos nematoides é somente um por lâmina) e o fato de que, desta vez, não necessitam de registro de fotos no processo tradicional. Diante da grande semelhança, estas etapas não serão explicadas novamente.

A etapa efetiva de contagem também é semelhante à de contagem de células e parasitas, descrita na seção 5.1.1.3. É feita por um operador diretamente no microscópio e utiliza o equipamento chamado contador manual de células. Entretanto, neste caso estão presentes alguns agravantes, tais como:

- No momento da contagem, os nematoides estão vivos e se movimentam, podendo gerar confusão do operador e exigindo ainda mais atenção;
- Os nematoides são colocados na lâmina do microscópio em uma solução de 0,1mL de água. Com a incidência da luz, esta água pode evaporar e dissecar os nematoides, invalidando o trabalho realizado até aquele momento.

5.2.1 Resultados da contagem de NEPs

Conforme dito na seção 5.2, foram realizadas contagens de progênie de nematoides entomopatogênicos (NEPs), que consistem de larvas utilizadas para o controle biológico de insetos pragas (Costa, 2014). Neste experimento, seis amostras distintas foram contadas e cada uma, com 0,1mL de água contendo nematoides a serem contados, foi analisada duas vezes, uma pelo método tradicional de contagem e outra pelo método manual proposto com o uso do Quanto. Desta forma, pôde-se comparar os resultados da contagem da mesma amostra utilizando os dois procedimentos. O Quadro 5.3 exhibe os resultados da contagem por meio dos dois métodos supracitados.

Amostras	Manual sem uso de Software	Manual com uso de Software
AM1	115	110
AM2	184	182
AM3	157	145
AM4	18	18
AM5	67	54
AM6	45	42

Quadro 5.3 - Resultados da contagem de nematoides pelo método tradicional e pelo uso do Quanto.

Após realizar os experimentos, os pesquisadores do LabBio FASM reportaram que, diante dos problemas de ergonomia, conforto e nível de concentração elevado inerentes ao procedimento tradicional de contagem e, principalmente, pelo fato dos nematoides estarem vivos e em movimento no momento da contagem, os resultados obtidos pelo Quanto podem ser considerados mais precisos, pois, dentre outros fatores, as contagens são realizadas em imagens estáticas e permitem a averiguação dos resultados. O tempo gasto para as contagens é apresentado no gráfico da Figura 5.4.

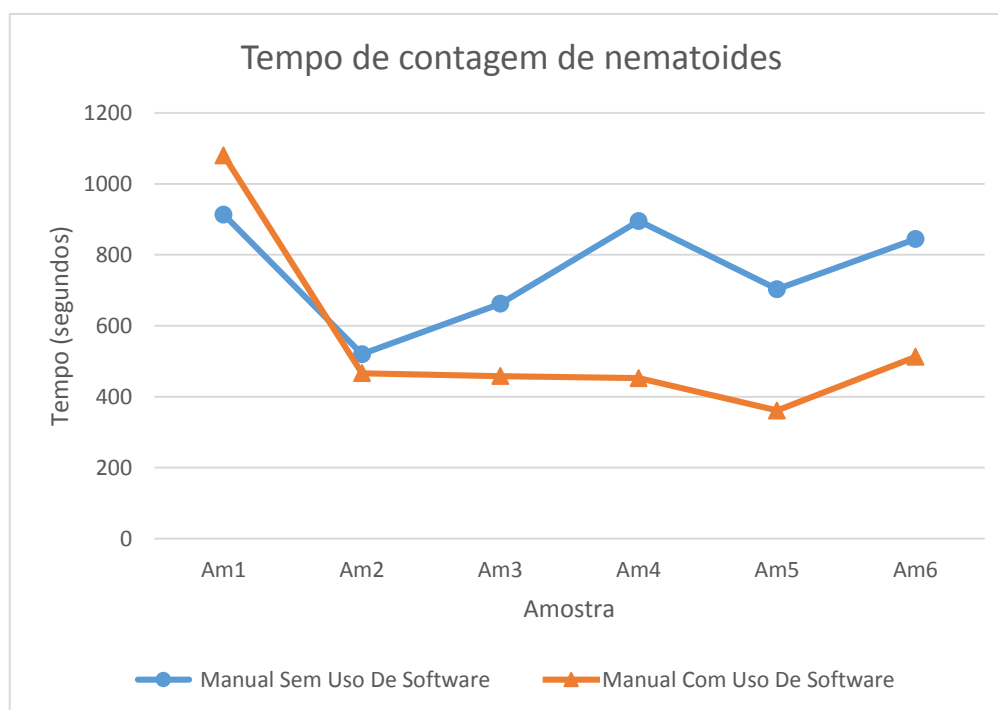


Figura 5.4 - Tempos de contagem de NEPs.

Ao se analisar os dados do gráfico presente na Figura 5.4, nota-se que o novo método de contagem proposto com o uso do Quanto traz ganhos consideráveis em relação ao tempo de trabalho. A única amostra em que o tempo da contagem no Quanto foi maior do que a contagem tradicional foi a primeira a ser analisada, isto ocorreu devido a um travamento no programa que gerou a necessidade de reiniciar a ferramenta e refazer a contagem. Diante do fato de que travamentos podem ocorrer em programas de computador, todo o tempo de reiniciar o programa e a contagem foi considerado, gerando grande aumento no tempo cronometrado.

Conforme dito, os tempos foram medidos desde o posicionamento da amostra no microscópio, passando pela captura das fotos, até o término da contagem. Alguns problemas de ajustes, iluminação e foco da câmera no momento de capturar as fotos

das seis amostras também comprometeram o tempo de contagem por meio do Quanto. Diante disto, acredita-se que, com a prática e aumento da experiência utilizando o Quanto, o ganho de tempo promovido pela ferramenta poder ser ainda maior. Ainda assim, quando comparados os tempos totais de contagem pelo método tradicional e pelo uso do Quanto, observa-se uma melhora de aproximadamente 27% neste fator. A Figura 5.5 exibe os tempos totais de contagem por meio do método tradicional e por meio do Quanto, somando as seis amostras analisadas.

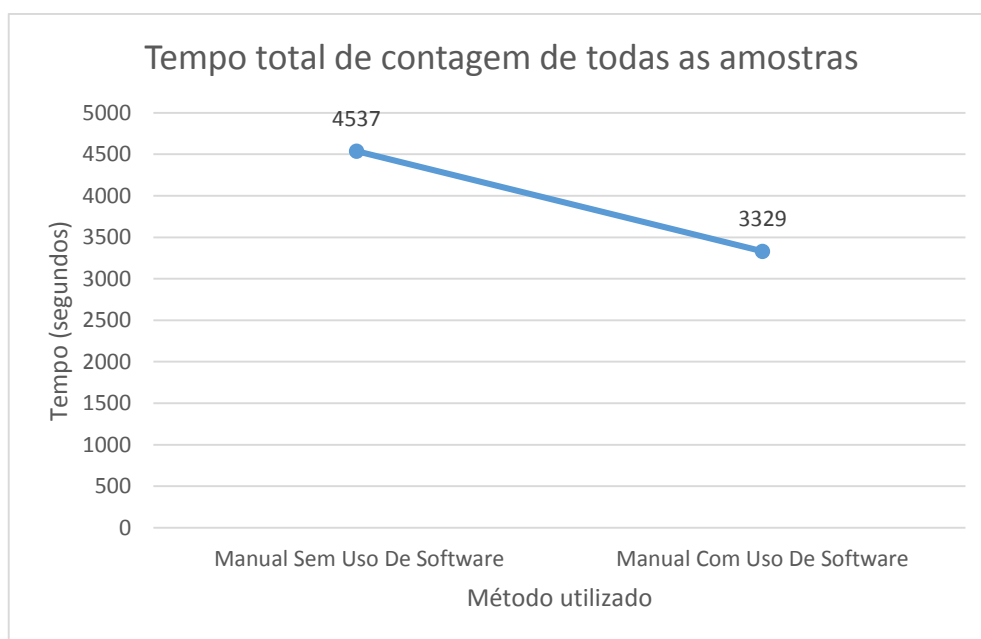


Figura 5.5 - Tempo total de contagem de nematoides incluindo as seis amostras analisadas.

5.3 Quantificação de Ferrita- δ no metal de solda inoxidável austenítico

Além de testes relacionados a contagem de elementos em imagens, também foram realizados experimentos práticos utilizando as medições estereológicas presentes no Quanto. Este experimento foi executado baseando-se em Mendonça (2014), que realiza a caracterização e a quantificação de ferrita- δ na microestrutura de um cordão de solda de aço inoxidável austenítico.

Mendonça (2014) utilizou o método da contagem manual de pontos por microscopia ótica (MO) em imagens com diferentes aumentos para estimar o teor de ferrita- δ . Com o intuito realizar uma comparação entre o método de contagem manual, utilizado em Mendonça (2014), e o método de contagem proposto pelo Quanto, foram utilizadas as mesmas imagens, disponibilizadas pelos pesquisadores do Laboratório

de Materiais Avançados da UENF (LAMAV – UENF), e os mesmos parâmetros entre os dois métodos, alterando-se somente a forma de realizar a contagem.

5.3.1 Metodologia de contagem utilizada em Mendonça (2014)

A quantificação da ferrita delta feita em Mendonça (2014) foi fundamentada na “*Standard test method for determining volume fraction by systematic manual point*” (ASTM, 2011). O quantitativo de micrografias analisadas está distribuído no Quadro 5.3.

Amostra	Quantidade de micrografias analisadas			
	Aumento 430x	Aumento 1075x	Aumento 2136x	Total
1	5 (1ª camada)	5 (1ª camada)	5 (1ª camada)	15
2	5 (1ª camada) 5 (2ª camada)	5 (1ª camada) 5 (2ª camada)	5 (1ª camada) 5 (2ª camada)	30
3	5 (1ª camada) 5 (2ª camada)	5 (1ª camada) 5 (2ª camada)	5 (1ª camada) 5 (2ª camada)	30
Total	25	25	25	45

Quadro 5.4 - Quantitativo de amostras analisadas (Mendonça, 2014 adaptada).

Conforme se vê no Quadro 5.3, foram analisadas quinze micrografias de cada camada de ferrita delta soldada em aço inoxidável austenítico. Destas, cinco no aumento de 430x, cinco em 1075x e outras cinco no aumento de 2136x. Em cada uma das 75 micrografias analisadas (Quadro 5.3) sobrepôs-se uma malha com 100 pontos, totalizando 7500 pontos. É importante ressaltar que, para cada camada de ferrita delta soldada, estavam disponíveis cerca de 27 micrografias e as 15 analisadas foram selecionadas aleatoriamente. Caso uma micrografia selecionada estivesse de má qualidade ou gerando muitas dúvidas na contagem, esta era descartada.

A contagem da ferrita- δ foi feita da seguinte maneira: após sobrepor a malha com os 100 pontos igualmente espaçados, a imagem foi convertida para o formato PDF e foi contado visualmente o número de pontos que incidiram sobre o constituinte de interesse, ou seja, a ferrita- δ . Cada ponto que caiu na borda da fase de interesse foi contado como 0,5 e cada ponto que gerou dúvida se estava fora ou dentro da ferrita- δ também foi contado como 0,5.

Após terminar a contagem calculou-se a fração volumétrica, assim como explicado na Seção 2.2.1. A Figura 5.6 exibe uma micrografia analisada com a malha de pontos sobreposta.

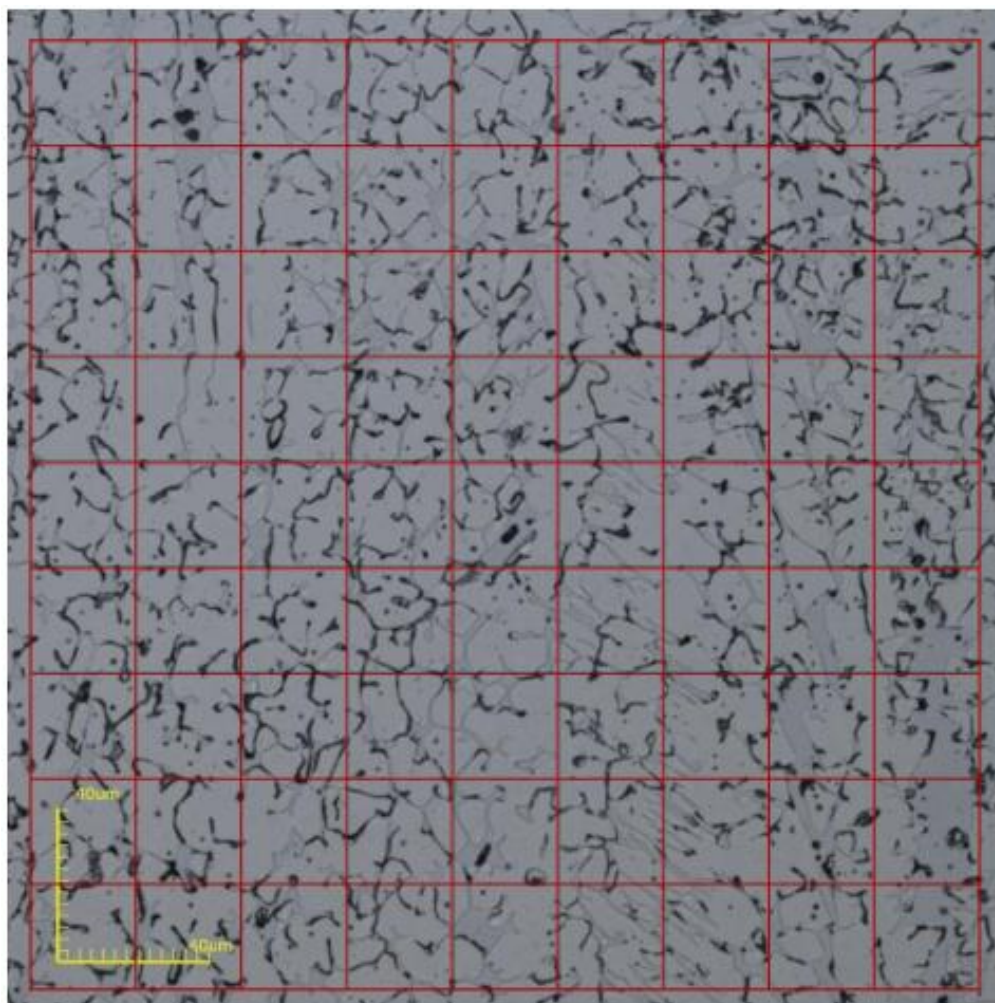


Figura 5.6 - Micrografia de ferrita delta com malha de 100 pontos sobreposta (Mendonça, 2014).

5.4 Metodologia de contagem utilizando o Quanto

A fim de permitir a comparação entre os métodos de medições estereológicas, a análise de ferrita delta realizada utilizando o Quanto foi feita de maneira análoga àquela realizada em Mendonça (2014). Dentre as micrografias disponíveis (cerca de 27 para cada camada de solda, disponibilizadas pela autora), foi selecionada a mesma quantidade de imagens e foi utilizado o mesmo método de escolha supracitado (15 micrografias de cada camada selecionadas aleatoriamente).

A única diferença entre a análise realizada em Mendonça (2014) e a análise realizada no presente trabalho utilizando o Quanto é a forma efetiva de realizar a contagem. Para realizar a contagem no programa, cada micrografia foi carregada sem a malha de pontos sobreposta e foi realizada uma binarização. Esta segmentação é necessária para separar a fase de interesse dos outros elementos da imagem.

Após realizar a binarização da micrografia, o botão “Fração volumétrica por fração de pontos (Pp)”, presente na aba “Estereologia” da barra lateral de funcionalidades do Quanto foi pressionado. Assim, o programa exibe a malha de pontos sobreposta na imagem binarizada e os seguintes valores referentes à contagem: quantidade de pontos incidentes na fase de interesse, quantidade de pontos que não incidiram na fase de interesse e a fração volumétrica calculada. A Figura 5.7 exibe uma micrografia após ser binarizada e submetida a esta análise.

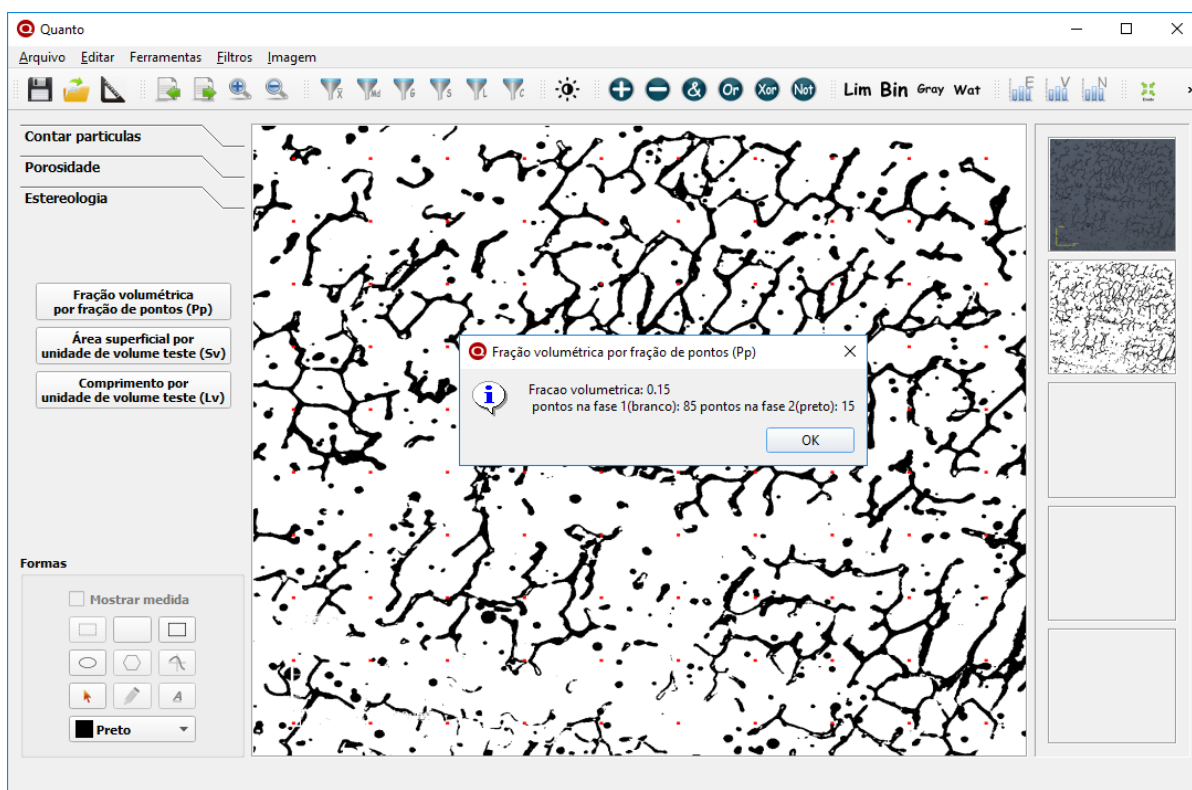


Figura 5.7 - Micrografia de ferrita delta binarizada e submetida à análise de fração volumétrica por fração de pontos no Quanto.

5.4.1 Resultados da quantificação de ferrita- δ

A quantificação de ferrita- δ na microestrutura dos aços é considerada importante, pois está relacionada com a resistência à corrosão e com as propriedades mecânicas destes materiais. Os resultados da quantificação realizada em Mendonça

(2014), bem como os resultados da análise feita com o uso do Quanto são exibidos no Quadro 5.4.

Amostra/ca- mada	Aumento	Média de pontos na fase de interesse nas 5 micrografias	
		Método manual de conta- gem (Mendonça, 2014)	Contagem proposta utilizando o Quanto
A1 312	430 x	22,9	23,6
	1075x	13,4	13,6
	2136x	10,2	12,6
A2 308	430 x	25,4	16,2
	1075x	14,7	11,6
	2136x	13	12
A2 312	430 x	24,1	15
	1075x	12,8	11
	2136x	12,9	13,8
A3 309	430 x	20,3	20,4
	1075x	15,3	14,4
	2136x	11,9	10
A3 312	430 x	23,5	22,4
	1075x	10,5	13,6
	2136x	9,5	14,6

Quadro 5.5 - Resultados da quantificação de ferrita delta por meio do método manual utilizado em Mendonça (2014) e por meio do Quanto.

Conforme pode ser visto no Quadro 5.4, os resultados da quantificação utilizando os dois métodos de contagem foram semelhantes na grande maioria dos casos. Somente em três casos houve diferença mais acentuada entre os resultados: na amostra A2 308, com aumento de 430x, na amostra A2 312, com aumento de 430x e na amostra A3 312 com aumento de 2136x. É importante ressaltar que, conforme constatado em Mendonça (2014), o aumento de 430x apresentou resultados destoantes de outros casos, evidenciando que este aumento possivelmente não é suficiente para este tipo de análise, gerando falhas.

Conforme citado na Seção 5.3.1, a quantificação realizada em Mendonça já foi realizada com o auxílio do computador. Desta forma, os possíveis benefícios do método de contagem por meio do Quanto são mais voltados ao tempo de trabalho e precisão dos resultados, diferentemente dos casos de contagem de células e parasitas (Seção 5.1) e de progênie de nematoides (Seção 5.2), em que há também ganho

de ergonomia, conforto, economia de energia e outros. O Quadro 5.5 apresenta os tempos em minutos que foram cronometrados na quantificação da ferrita delta por meio do Quanto.

Amostra	Aumento	Tempo total gasto para contagem das 5 imagens através do Quanto (min)
A1 312	430 x	02:50
	1075x	02:51
	2136x	02:10
A2 308	430 x	02:10
	1075x	02:20
	2136x	02:03
A2 312	430 x	02:02
	1075x	04:00
	2136x	01:33
A3 309	430 x	01:54
	1075x	02:05
	2136x	03:02
A3 312	430 x	01:40
	1075x	02:44
	2136x	03:19
Média		02:26

Quadro 5.6 - Tempo gasto para a quantificação da ferrita delta por meio do Quanto.

Os experimentos realizados em Mendonça (2014) utilizando o método manual de contagem apresentaram tempo médio de 9 minutos e 32 segundos para cada imagem, totalizando 47 minutos e 40 segundos. O tempo médio gasto para a análise de um grupo de 5 micrografias utilizando o Quanto foi de 2 minutos e 26 segundos, o que representa um ganho da ordem de 95% na economia de tempo de trabalho para a quantificação de ferrita- δ . A Figura 5.8 apresenta graficamente a comparação entre o tempo de análise por meio do método manual utilizado em mendonça (2014) e o tempo de análise por meio do Quanto.

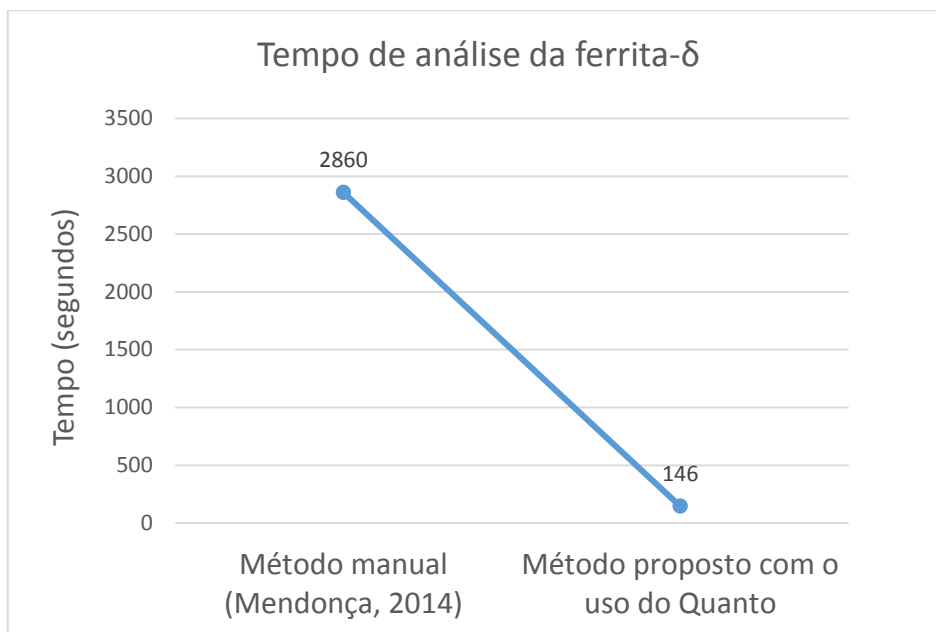


Figura 5.8 - Tempo de análise da ferrita- δ através do método manual e do método proposto com o uso do Quanto.

6 CONCLUSÃO

No presente trabalho, foi desenvolvido um software denominado Quanto, que consiste em uma ferramenta simples e intuitiva direcionada a realizar diversos processos de contagem de elementos e análise de imagens. O software foi desenvolvido utilizando recursos multiplataforma, que possibilitam seu uso em diferentes sistemas operacionais, além de facilitarem a conversão para outras plataformas (Android, ios, etc.). Além das funcionalidades de contagem de elementos e medições estereológicas, foram implementados recursos de tratamento de imagens, tais como, opções de segmentação, Operações lógicas e aritméticas, operações morfológicas, filtros passa alta e passa baixa, criação de formas, entre outros, aumentando as possibilidades de uso da ferramenta.

As funcionalidades de medições estereológicas e contagem de elementos em imagens, manual e automatizada, permitem que o Quanto atue de forma alternativa a métodos tradicionais de análise. Experimentos práticos comparando estes métodos tradicionais com o novo método proposto pela ferramenta mostraram que seu uso traz benefícios consideráveis de ergonomia, conforto, precisão dos resultados, reprodutibilidade, flexibilidade de trabalho e economia de energia. Além destes benefícios, os experimentos também mostraram que o Quanto pode reduzir o tempo de trabalho em até 95%, otimizando estudos e análises científicas.

Para comprovar a eficácia e eficiência do software, foram realizados experimentos em diferentes situações que necessitam de análise de imagens de microscópios, tais como, contagem de células e parasitas, contagem de produção de nematoides e quantificação de ferrita delta, todos feitos em ambientes reais de trabalho e por pesquisadores experientes nos respectivos processos. Isto permitiu a sua validação e verificação, mostrando que a ferramenta atingiu satisfatoriamente os objetivos de concepção e pode figurar como um aliado em diversos tipos de investigações científicas.

Desta forma a ciência e engenharia dos materiais, bem como biologia e outras áreas que podem possuir interesse, agora incorporam ao arcabouço de recursos para condução de suas pesquisas, um software simples, gratuito e comprovadamente eficiente para diversos processos de contagem de elementos em imagens, medições estereológicas e tratamento e segmentação de imagens.

6.1 Trabalhos Futuros

Como trabalhos futuros acredita-se que o Quanto pode ser aprimorado de acordo com as necessidades apontadas pelo uso da ferramenta. Sugerem-se algumas modificações e aprimoramentos previamente identificados como viáveis:

- Desenvolver um software especialista em contagem e medição de nematoides;
- Dividir o Quanto em dois softwares especialistas: um para contagem de partículas e outro para medições estereológicas;
- Implementar outras medições estereológicas;
- Aprimorar a função de contagem automatizada utilizando técnicas de inteligência computacional;

7 REFERÊNCIAS

- Albuquerque, V.H.C., Cortez, P.C., Alexandria, A.R., Aguiar, W.M., Silva, E.M. (2007) Sistema de segmentação de imagens para quantificação de microestruturas em metais utilizando redes neurais artificiais. *Revista Matéria*, Rio de Janeiro, 12(2):394-407.
- Agarwal, H., Gokhale, A.M., Graham, S., Horstemeyer, M.F. (2003) Void growth in 6061-aluminum alloy under triaxial stress state. *Materials Science and Engineering*, A341:35-42.
- Aguiar, T.V., Sant'anna-Santos, B.F., Azevedo, A.A., Ferreira, R.S. (2007) Anati Quanti: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, 25(4):649-659.
- Aquino, T.M., Nascimento, A.A.P.L., Spacov, I.C.G., Carvalho, C.S., Lima, V.T., Alves, A.Q., Faria, A.R., Araújo, J.M., Lima, J.G., Alves, A.J., Melo, E.J.T., Góes, A.J.S., (2011) Synthesis, Anti-Toxoplasma gondii and Antimicrobial Activities of 2-hydrazolyl-3-phenyl-5-(4-nitrobenzylidene)-4-thiazolidinone Substituted Derivatives. *Latin American Journal of Pharmacy*, 30(8): 1567-73.
- Armienti, P., Tarquini, S. (2002) Power law olivine Crystal size distributions in lithospheric mantle xenoliths. *Lithos*, 65:273-285.
- ASTM. (2011). Standard test method for determining volume fraction by sistematic manual point. E562-11. USA.
- Aydemir, S., Keskin, S., Drees, L.R. (2004) Quantification of soil features using digital image processing (DIP) techniques. *Geoderma*, 119:1-8.
- Bandeira, M.V. (2005) *Localização de imagens ao microscópio utilizando processamento digital de imagem*. Tese (Mestrado em Engenharia Elétrica) Porto Alegre - RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS.
- Belaid, L.J., Mourou, W. (2009) Image segmentation: a watershed transformation algorithm. *Image Anal Estereol*, 28:93-102.
- Banerjee, S., Ghosh, S.K., Datta, S., Saha, S.K. (2013) Segmentation of dual phase steel micrograph: an automated approach. *Measurement*, 46:2435-2440.
- Berenice, A.D.M., Carmem, I.G.G. *Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores*. Porto Alegre - RS: EDIPUCRS, 2007.
- Beucher, S., Meyer, F. (1992) The morphological Approach to segmentation: The watershed transformation. *In: Dougherty, E.R. Mathematical Morphology in Image Processing*. New York: Marcel Dekker Inc, p. 433-482.
- Bilinski, S.F., Bilinski, H., Vdovic, N., Balagurunathan, Y., Dougherty, E.R. (2003) Application of image-based granulometry of siliceous and calcareous estuarine and marine sediments, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 58:227-239.

- Blanchette, J. S. (2008). *C++ Gui Programming with Qt 4*. 2 ed. Massachussetts: Prentice Hall, 752p.
- Bradski, G., Kaehler, A. (2008) *Learning OpenCV: computer vision with the OpenCV library*. 1. Ed., Sebastopol: O'Reilly Media, Inc., 576p.
- Bruno, L., Parla, G., Celauro, C. (2012) Image analysis for detecting aggregate gradation in asphalt mixture from planar images, *Construction and Building Materials*, 28:21–30.
- Brys, L.M. (2008) Página dinâmica para aprendizado do sensoriamento remoto. Tese (Mestrado em sensoriamento remoto), Porto Alegre – RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 170p.
- Borges, J.N. Preparação de Amostras para Análise Microestrutural, http://www.materiais.ufsc.br/lcm/web-carac-l/Preparacao%20de%20Amostras%20para%20Análise%20Microestrutural_1.pdf, em 26/06/2016.
- Buryachenko, V.A., Pagano, N.J., Kin, R.Y., Spowart, J.E., Quantitative description and numerical simulation of random microstructures of composites and their effective elastic moduli. *International Journal of Solids and Structures*, 40:47-72.
- Câmara, G., Souza, R.C.M., Freitas, U.M., Garrido, J., Li, F.M (1996) *SPRING: Integrating remote sensing and GIS by object-oriented data modelling*. *Computers & Graphics*, 20(3): 395- 403.
- Canny, J. (1986) A Computational Approach to Edge Detection, *IEEE Transactions On Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 8(6):679-698.
- Carvalho, C.S., Melo, E.J.T, Tenório, R.P., Góes A.J.S. (2010) Anti-parasitic action and elimination of intracellular *Toxoplasma gondii* in the presence of novel thiosemicarbazone and its 4-thiazolidinone derivatives. *Braz J Med Biol Res*, 43(2):139-149.
- Carvalho, L.P., Gomes, M.A.G.B., Rocha, B.S., Oliveira, R.R., Maria, E.J. Melo, E.J.T. (2014) Anti-Parasite effects of new Thiosemicarbazones and their Products Thiazolidinone including Cellular aspects of Intracellular Elimination of *Trypanosoma Cruzi* in Vitro. *Journal of Developing Drugs*, 3(2):1-7.
- Chanda, B., Majumder, D.D. (2001) *Digital Image Processing and Analysis*, Prentice-Hall.
- Chung, C.H., Chang, F.J. (2013) A refined automated grain sizing method for estimating river-bed grain size distribution of digital images. *Journal of Hydrology*, 486:224-233.
- Collins, T.J. (2007) ImageJ for microscopy. *BioTechniques*, 43:S25-S30.
- Costa, F. S. (2014) Isolamento e caracterização biológica de nematoides entomoto-gênicos (Rhabdita) do Manguezal do estuário do Rio Paraíba do Sul, RJ. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes, RJ - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias.
- Cusumano, M. A., Yoffie, D.B. (1999) Software development on Internet time. *Computer*, 32(10):60–69.

Damasceno-Rodrigues, N.G. (2012) Estudo estereológico do efeito da exposição gestacional à poluição ambiental de São Paulo sobre o desenvolvimento renal em camundongos. Tese (Doutorado em ciências) -São Paulo-SP, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – USP, 96p.

Da Silva, A.G.P. (2007) Introdução à estereologia. Laboratório de Materiais Avançados - Universidade Estadual do Norte Fluminense, <http://aulas.e-agps.info/estereologia/estereologia.pdf> em: 05/06/2016.

De Moura, E.M. (2011) Análise gráfica de estruturas porosas sobre a ótica da estereologia. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais) -Natal– RN, Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN.

Dias, F.B. (2015) *Técnicas de processamento digital de imagens aplicadas à detecção de trincas em pelotas de minério de ferro*. Trabalho de conclusão de curso (Pós-Graduação Lato Sensu em Engenharia Elétrica com Ênfase em Sistemas Inteligentes Aplicados à Automação), Vitória – ES, Instituto Federal do Espírito Santo – Ifes, 72p.

Dias, F.C. (2008) *Uso do software imagej para análise quantitativa de imagens de microestruturas de materiais*. Tese (Mestrado em Engenharia e Tecnologia Espaciais/Ciência e Tecnologia de Materiais e Sensores) —São José dos Campos -SP, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE.

Dias, F.G., Soares, H.C., Fonseca, L.M.G. (2011) Estudo da aplicação de filtros de detecção de bordas na identificação da frente termal da Corrente do Brasi, *Anais XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto - SBSR*, Curitiba, PR: INPE p.7086 – 7092.

Ercolin Filho, L. (2007) Extração semi-automática de feições lineares e a calibração dos parâmetros intrínsecos de câmeras. Disponível em: <http://www.lps.usp.br/~hae/psi5796-05/seminarios/LeonardoErcolin-artigo.pdf>, acessado em: julho de 2016.

Esquef, I.A. (2002) *Técnicas de entropia em processamento de imagens*. Tese (Mestrado em instrumentação científica), Rio de Janeiro – RJ, Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, 155p.

Esteves, E.M. (2011) Simulação computacional de medidas estereológicas em estruturas de metal duro (WC-Co). Tese (Doutorado em ciência e engenharia de materiais) Natal – RN, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFNR, 130p.

Fazano, C.A.A (2005) Aplicação da análise de imagem na quantificação das características microestruturais de materiais. *Revista Analytica*, 19:46–60.

Ferreira Filho, A.E. (2009) Implementação da rotina de unfolding para determinação de distribuição de tamanho de grãos esféricos via distribuição de interceptos lineares e de área de seção. Tese (Mestrado em ciência e engenharia de materiais) Natal – RN, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFNR, 71p.

Francisco, J.S., Moraes, H.P., Dias, E.P. (2004) Evaluation of the Image-Pro Plus 4.5 software for automatic counting of labeled nuclei by PCNA immunohistochemistry. *Oral Pathology*, 18(2):100-104.

Freitas Filho, P.J. (2008) *Introdução a modelagem e simulação de sistemas com aplicações em Arena*. 2. ed. São Paulo: Visual Books, 372p.

Gallon, L. (2013) Sistema de visão computacional para classificação de pedras naturais através de vídeo em tempo real. TCC (Sistemas de informação) -Lageado- RS, Centro universitário univates, 72p.

Geuna, S. (2005) Disector principle in morphological research and the revolution of counting "Tops": two decades of the disector principle in morphological research. *Microscopy Research and Technique*, 66:270-274.

Glud, J.A., Dulieu-Barton, J.M., Thomsen, O.T., Overgaard, L.C.T. (2016) Automated counting of off-axis tunnelling cracks using digital image processing. *Composites Science and Technology*, 125:80-89

Goldenstein, H. Microscopia Óptica Departamento de Engenharia Metalúrgica e Materiais - Universidade de São Paulo; http://www.angelfire.com/crazy3/qfl2308/1_multipart_xF8FF_6_Microscopia_otica.pdf em 05/05/2016.

Gomes, M.A.G.B., Carvalho, L.P., Rocha, B.S., Oliveira, R.R., Melo, E.J.T., Maria, E.J. (2012) Evaluating anti-Toxoplasma gondii activity of new series of phenylsemicarbazone and phenylthiosemicarbazones in vitro. *Medicinal Chemistry Research*, DOI 10.1007/s00044-012-0347-9.

Gomes, O.D.F.M. (2001) *Processamento e Análise de Imagens Aplicados à Caracterização Automática de Materiais*. Tese (mestrado em ciências da engenharia metalúrgica) – Rio de Janeiro – RJ, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro – PUC Rio.

Gondim, R.M.F. (2012) *Avaliação e cicatrização cutânea: fluorescência e estereologia*. Tese (Doutorado em ciências) - São Paulo - SP, Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo (USP), 167p.

Gonzalez, R. C., Woods, R., Eddins, S. (2004) *Digital image processing using MATLAB*. 1. ed. New Jersey: Person Education, Inc.

Gonzalez, R.C., Woods, R.E. (2000) *Processamento de imagens digitais*, 1 ed. São Paulo, Edgar Blücher, 509p.

Gonzalez, R.C., Woods, R.E. (2002) *Digital Image Processing*, 2 ed. Nova Jersey, Prentice Hall, 190p.

Guo, Q., Bian, Y., Li, L., Jiao, Y., Tao, J., Xiang, C. (2015) Stereological estimation of aggregate gradation using digital image of asphalt mixture. *Construction and Building Materials*, 94:458-466.

Heidjen, V.D., *Image based measurement systems: object recognition and parameter estimation*, 1. Ed. Inglaterra: John Wiley & Sons, 348p.

Henriques, J., Cruz, P. - *Processamento de Imagem*; <https://woc.uc.pt/dei/get-File.do?tipo=2&id=1141> em 25/07/2016 página mantida pelo Departamento de Engenharia Informática da Universidade de Coimbra.

Horovistiz, A.L., Frade, J.R., Hein, L.R.O. (2004) Comparison of fracture surface and plane section analysis for ceramic grain size characterisation. *Journal of the European Ceramic Society*, 24:619-626.

Horovistiz, A.L., Muccillo, E.N.S. (2011) Quantification of microstructural features in gadolinia-doped ceria containing co-additives by digital image analysis. *Journal of the European Ceramic Society*, 31:1431-1438.

Jesus, E.O., Costa Junior, R.C. (2015) A utilização de filtros gaussianos na análise de imagens digitais. *Proceeding Series of the Brazilian Society of Applied and Computational Mathematics*, Natal, 3(1):1-7.

Launeau, P., Archanjo, C.J., Picard, D., Arbaret, L., Robin, P.Y. (2010) Two- and three-dimensional shape fabric analysis by the intercept method in grey levels. *Tectonophysics*, 492:230-239.

Liesen, A.P., Aquino, T.M., Carvalho C.S., Lima, V.T., Araújo, J.M., Lima, J.G., Faria, A.R., Melo, E.J.T., Alves, A.J., Alves, E.W., Alves, A.Q., Góes, A.J.S. (2010) Synthesis and evaluation of anti-Toxoplasma gondii and antimicrobial activities of thiosemicarbazides, 4-thiazolidinones and 1,3,4-thiadiazoles, *European Journal of Medicinal Chemistry*.

Lima, H.N. (2009) *Um sistema de CBIR para triagem virtual de imagens de patologia*. Monografia de Graduação em Engenharia de Computação - Recife - PE: Escola Politécnica de Pernambuco - POLI, 63p.

Mannheimer, W.A. (2002) *Microscopia dos materiais: uma introdução*. 1.ed. Sociedade brasileira de microscopia e microanálise. 112p.

Marinoni, N., Pavese, A., Foi, M., Trombino, L. (2005) Characterisation of mortar morphology in thin sections by digital image processing. *Cement and Concrete Research*, 35:1613-1619.

Marques Filho, O., Vieira Neto, H., (1999) *Processamento Digital de Imagens*, 1. ed. Rio de Janeiro: Brasport, 331p.

Matta, W.N. (2015) *Metodologia para detecção de máculas em micrografias utilizando morfologia matemática*. Monografia de graduação em Ciência da Computação – Belo Horizonte – MG: Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, 93p.

Matzl, M., Schneebeil, M., (2010) Stereological measurement of the specific surface area of seasonal snow types: Comparison to other methods, and implications for mm-scale vertical profiling. *Cold Regions Science and Technology*, 64:1–8.

Maurer, M.R. (2005) *Reconstrução tridimensional de imagens de microscopia de luz*. Tese (Mestrado em informática) Curitiba – PR, Universidade Federal do Paraná – UFPR, 121p.

Mendonça, S.V.S. (2014) *Caracterização de ferrita- δ no metal de solda inoxidável austenítico*. Monografia (Graduação em engenharia de materiais) Universidade Estadual do Norte Fluminense (Uenf).

Meneses, P.R., Almeida, T. (2012) *Introdução ao processamento de imagens de sensoriamento remoto*. 1. Ed. Brasília: CNPq, 276p.

Menezes, G.G.S. *Reconhecimento de faces usando análise de componentes principais e morfologia matemática*. Monografia de Graduação em Engenharia de Computação -Recife- PE: Escola Politécnica de Pernambuco - POLI.

Moreira, C.N., Microscópio ótico. http://wikiciencias.casadasciencias.org/wiki/index.php/Microsc%C3%B3pio_%C3%93ptico em 05/05/2016.

Moura, E.M. (2011) *Análise Gráfica de estruturas porosas sobre a ótica da estereologia*. Tese (doutorado em ciências e engenharia dos materiais) - Natal - RN, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, 133p.

Murphy, T.F. (2004) Quantifying the degree of sinter in ferrous P/M materials. *Powder Metallurgy Technology*, 02:219-225.

Neves, S.C.M., Pelaes, E.G. (2001) Estudo e implementação de técnicas de segmentação de imagens. *Revista Virtual de Iniciação Acadêmica da UFPA*, Belém-PA, 1(2):1-11.

Nogueira, I.L. (2013) *Desenvolvimento de software para identificação e caracterização de pites de corrosão em cupons*. Tese (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) -Campos dos Goytacazes – RJ: Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.

Oliveira, K.C. (2013) *Análise estereológica postmortem do córtex orbitofrontal de indivíduos acometidos por transtorno obsessivo-compulsivo ou por transtorno afetivo bipolar*. Tese (doutorado em ciências) São Paulo – SP, Universidade de São Paulo – USP, 235p.

OpenCV. (2012). <http://opencv.willowgarage.com/wiki/> em 15/05/2016.

Padilha, A.F. (2007) *Materiais de engenharia: microestruturas e propriedades*. 3.ed. São Paulo – SP: Hemus, 352p.

Wagner, Dd.T., Rouco, H.V., Gomes, O.F.M., Paciornik, S., Vieira, M.B. (2009) Caracterização de pelotas de minério de ferro por microscopia digital e análise de imagens. *Revista Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Mineração*, 5(4):215–218.

Paula Filho, P.L., Soares, C.J., Tusset, A.M. (2010) Utilização de um Sistema de Visão Computacional para o Controle de um Robô Móvel, Proceedings of the 9th Brazilian Conference on Dynamics Control and their Applications, Serra Negra, SP.

Peixoto, F.M., Rebouças, E.S., Xavier, F.G.L., Rebouças Filho, P.P. (2015) Desenvolvimento de um software para cálculo de densidade de nódulos de grafita em ferro fundido nodular através de processamento digital de imagens. *Revista Matéria*, Rio de Janeiro, 20(1):262-272.

Piedade, M.C.B. (2010) Avaliação estrutural, estereológica e biomecânica do efeito da aplicação do ultrassom no reparo de lesão lacerativa experimental do gastrocnêmio de rato. Tese (Doutorado em ciências) – São Paulo – SP, Universidade de São Paulo – USP, 166p.

Pinheiro, C.J.G. (2008) Desenvolvimento de um Algoritmo para Quantificação de Microestruturas em Tomografias 3d de Objetos Complexos Obtidas com Radiação Síncrotron. Tese (Doutorado em Engenharia Nuclear) -Rio de Janeiro – RJ, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ.

Pratt, W. K. (1991) *Digital Image Processing*, 2. ed. Wiley Interscience.

Russ, J.C., Dehoff, R.T. (2000) *Practical stereology*. 2. ed., New York: Kluwer Academic/Plenum.

Sales, D.D.S. (2014) *Desenvolvimento de um software livre para análise de imagens com estereologia quantitativa*. Tese (doutorado em engenharia e ciência dos materiais) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 187p.

Santos, E.P.D., Andrade, S.S. (2013) Visualização de Software como Suporte ao Desenvolvimento Centrado em Métricas Orientadas a Objetos. I Workshop Brasileiro de Visualização, Evolução e Manutenção de Software, Brasília – DF.

Serra, J. (1982) *Image Analysis and Mathematical Morphology*, 1.ed. Orlando: Academic Press, 411p.

Solomon, C., Breckon, T. (2011) *Fundamentals of Digital Image Processing: a practical approach with examples In MATLAB*. 1.ed, Oxford: John Wiley & Sons, 335p.

Stanislaw, F., Maciej, S., Analysis of the development of cluster cracks caused by elevated temperatures in cement paste. *Construction and Building Materials*, 83:223-229.

Tenório, R.P, Carvalho, C.S., Pessanha, C.S., Lima, J.G., Faria, A.R., Alves, A.J., Melo, E.J.T., Góes, A.J.S. (2005) Synthesis of thiosemicarbazone and 4-thiazolidinone derivatives and their in vitro anti-Toxoplasma gondii activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15:2575–2578.

Traina, A.J.M., Oliveira, M.C.D.F. Apostila de Computação Gráfica; <http://www.inf.ufes.br/~thomas/graphics/www/apostilas/GBdl2006.pdf> em 13/07/2016 página mantida pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo – USP.

Trucco, E., Verri, A. (1998) *Introductory Techniques for 3-D Computer Vision*. 1. Ed., Prentice Hall, 343 p.

Underwood, E.E. (1970) *Quantitative stereology*. Reading, Massachusetts: Addison Wesley Publishing Company.

Univanet (2016): <https://www2.univanet.com/> acessado em 07/06/2016.

Vale, J.M., Poz, A.P.D. (2002a) O processo de detecção de bordas de Canny: fundamentos, algoritmos e avaliação experimental. *Anais do Simpósio Brasileiro de Geomática*, Presidente Prudente – SP: p.292-303.

Vale, J.M., Poz, A.P.D. (2002b) Processo de detecção de bordas de Canny. *Bol. Ciênc. Geod.*, Curitiba, 8(2):67-78.

Vasconcelos, A.L.D.O. (2010) Aplicações híbridas: Desktop/Web. *Revista QT*, p. 1.

Weibel, E.R. (1979) *Stereological methods: Pratical methods for biological morphometry*. Londres: Academic Press.

Yamada, T. (2014) Técnicas de processamento digital de imagens para análise de integridade do dossel – um modelo em semidecídua. Tese (Doutor em ciências) -São Carlos – SP, Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR, 91p.

Weibel, E.R. (1979) *Stereological methods: Pratical methods for biological morphometry*. Londres: Academic Press.