

## Segmentação e Identificação de Colônias de Bactérias em Placas Petri Utilizando Inteligência Artificial

**Autores: Barbara Diogo<sup>1</sup>, Jean-Jacques De Groote<sup>2</sup>**

**Colaboradores: Nicolas Scarpa<sup>3</sup>, Matheus Paulino<sup>4</sup>**

**<sup>1,2,3,4</sup>Centro Universitário Barão de Mauá**

<sup>1</sup>barbara2diogo@gmail.com - *Ciência da Computação*, <sup>2</sup>jean.georges@baraodemaua.br

### Resumo

Este trabalho apresenta um processo para identificar colônias de bactérias em placas Petri. Utilizando redes neurais convolucionais, uma técnica de inteligência artificial, o método proposto automatiza a localização e segmentação de placas Petri em imagens digitais. Em seguida, métodos de processamento digital de imagens são aplicados para identificar colônias de bactérias nessas placas. O processo de identificação padrão dos laboratórios é, muitas vezes, realizado de forma manual por inspetores, estando sujeito a erros humanos, consequência da natureza repetitiva e cansativa das operações. O processo automático visa auxiliar o trabalho humano com a identificação de uma quantidade significativa de colônias, indicando sua posição e área. Os resultados alcançados mostram que a precisão do modelo atingiu o máximo (1.0) em 3 épocas de treinamento, e a recall, que avalia a capacidade do modelo em identificar corretamente todos os exemplos positivos do conjunto de dados, também alcançou o valor máximo (1.0). Os resultados obtidos desta forma seguem um padrão que gera uniformidade no processo de contagem, o que é relevante, considerando que análises clínicas geram uma grande quantidade de imagens a serem analisadas.

### Introdução

As placas de Petri são recipientes de vidro ou plástico utilizados em laboratórios para o cultivo de microrganismos, como bactérias e fungos. Essas placas possuem uma tampa que as protege do ambiente externo, criando condições ideais para o crescimento de microrganismos. Elas são amplamente utilizadas em microbiologia para isolar e cultivar diferentes espécies de bactérias e fungos.

A contagem e identificação desses microrganismos presentes nas placas de Petri desempenham um papel fundamental nas análises microbiológicas. Essas práticas são fundamentais para compreender a composição microbiana de uma amostra, possibilitando

análises mais aprofundadas sobre a diversidade e distribuição dos microrganismos. Ao identificar as diferentes espécies bacterianas, os pesquisadores podem obter *insights* relevantes sobre a natureza da amostra, suas características e potenciais implicações para a saúde ou ambiente.

Processos de contagem automatizada, por meio de técnicas avançadas de Visão Computacional, buscam reduzir a intervenção humana, minimizando possíveis falhas e garantindo uma análise mais eficiente. Esses processos não apenas otimizam o tempo dos especialistas, liberando-os para análises mais complexas, mas também aumentam a precisão na determinação de dados essenciais para estudos microbiológicos.

Existem trabalhos científicos relevantes identificados na literatura, onde o uso de placas de Petri é combinado com técnicas de Inteligência Artificial (IA) para aplicações específicas, como descrito em SANTOS (2022) e JPO LIMA (2019). Ambos os trabalhos demonstram a aplicação bem-sucedida de técnicas de IA para diferentes finalidades, evidenciando o avanço significativo no campo interdisciplinar de identificação de objetos de interesse relevantes para este projeto. Neste artigo é apresentado um processo automatizado para identificar colônias de bactérias em placas de Petri por meio da Visão Computacional, combinando técnicas avançadas de Processamento Digital de Imagens (PDI) e Inteligência Artificial (IA). Nesse processo, o Método de IA tem como base a rede neural YOLO (*You Only Look Once - versão: YOLOv8*), uma rede neural convolucional desenvolvida especificamente para a detecção de objetos em imagens em tempo real.

A YOLO opera dividindo a imagem em uma grade de células, e cada célula é encarregada de prever caixas delimitadoras e probabilidades para os objetos presentes naquela região. Essa abordagem permite uma detecção eficiente das placas de Petri, permitindo assim a aplicação das técnicas de detecção, das colônias bacterianas apenas na região de interesse, removendo as

informações desnecessárias da imagem, como, por exemplo, a bancada do laboratório. A utilização da YOLO não apenas agiliza o processo de identificação, mas também oferece a capacidade de análise em tempo real, tornando-a uma ferramenta valiosa para estudos microbiológicos.

A motivação para essa abordagem automatizada é a superação das limitações do processo de identificação manual realizado por inspetores, que é propenso a erros humanos devido à natureza repetitiva e cansativa do processo. O objetivo principal é reduzir o trabalho humano associado à identificação de um número significativo de colônias, proporcionando informações sobre sua posição e área. A automação visa também garantir uniformidade no processo de contagem, o que é particularmente relevante em análises clínicas que podem envolver uma vasta quantidade de imagens a serem analisadas.

## Objetivos

O objetivo deste trabalho é desenvolver e implementar um método automatizado para identificação de colônias de bactérias em placas Petri, utilizando redes neurais convolucionais. O método propõe aprimorar a precisão e eficiência do processo de identificação, minimizando as falhas associadas à intervenção humana e liberando especialistas para focarem em análises mais complexas. Além disso, busca-se garantir uma uniformidade no processo de contagem de colônias, importante para análises clínicas que envolvem a manipulação de um grande volume de imagens.

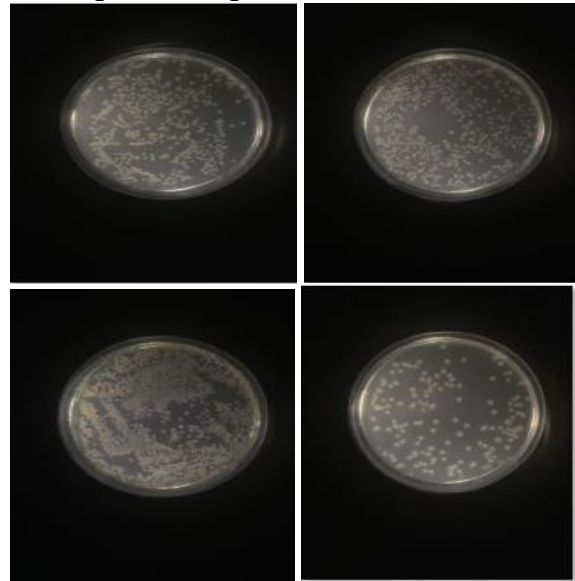
## Materiais e Métodos

A seguir apresentamos o banco de imagens utilizado e as técnicas implementadas na pesquisa.

### Banco de imagens

Para esse estudo, foi utilizado um banco de imagens provenientes da Universidade Católica Portuguesa. As imagens foram selecionadas com o objetivo de abranger uma diversidade maior de placas de Petri para garantir a precisão nos treinos da IA. Uma amostra está presente na Figura 1.

**Figura 1 - Imagens no banco de dados.**

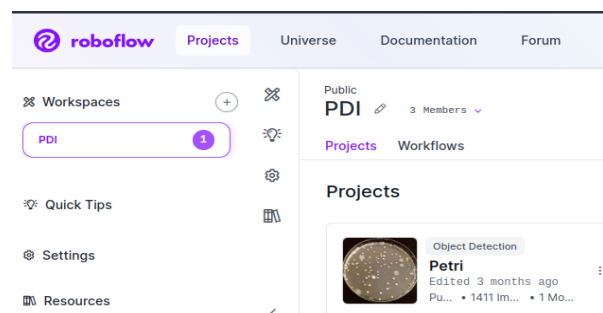


Fonte: Database of Petri plate. Disponível em : <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.20109377.v2>, Acesso em 20 mar. 2024.

### Marcação de imagens

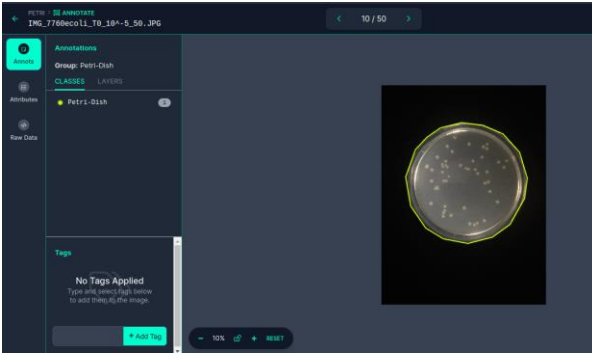
A utilização de imagens para o treinamento de redes neurais envolve a marcação das regiões de interesse (placas Petri), gerando arquivos de referência para treinar e testar as redes neurais. É um processo também conhecido como tagueamento/marcação. As imagens foram tagueadas utilizando o sistema de marcação semântica do Roboflow Train 3.0 (Figs. 2, 3). Este processo envolveu a identificação e marcação de cada placa Petri em todas as imagens do banco de dados. As marcações semânticas são essenciais para treinar algoritmos de detecção de objetos, como a YOLO, pois fornecem informações sobre a localização e a classe de cada objeto na imagem.

**Figura 2 - Tela inicial do Roboflow.**



Fonte: Roboflow, 2024. Disponível em: <https://app.roboflow.com/pdi-qjiyq/petri-4bqfw/deploy>. Acesso em: 20 mar. 2024.

**Figura 3 - Área de marcação.**



Fonte: Roboflow, 2024. Disponível em:

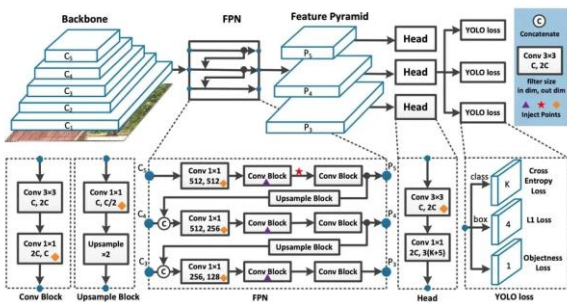
<https://app.roboflow.com/pdi-qjiyq/petri-4bqfw/deploy>.

Acesso em 20: mar. 2024.

### Método de IA

Para a detecção das placas de petri, foi utilizado o framework da rede neural YOLO (You Only Look Once). A YOLO é uma rede neural convolucional especificamente para detecção de objetos em imagens em tempo real. Utilizando a YOLO, a imagem é dividida em uma grade de células e cada célula é responsável por prever caixas delimitadoras e probabilidades para os objetos presentes naquela região (Fig.4). Para a utilização da YOLO foram utilizadas as bibliotecas YOLO e roboflow para importar as imagens e marcações correspondentes.

**Figura 4 - Estrutura da Rede Neural YOLO.**



Fonte: Disponível em:

<https://medium.com/@syedzahidali969/principles-of-yolov8-6a90564e16c3>. Acesso em 20 mar. 2024.

### Bibliotecas PDI

Para o processamento digital das imagens foram utilizadas as bibliotecas numpy, OpenCV e matplotlib.pyplot para manipulação de arrays, operações de processamento de imagem e visualização dos resultados obtidos durante o processo de segmentação e identificação das placas e colônias.

### Métodos de análise de erros

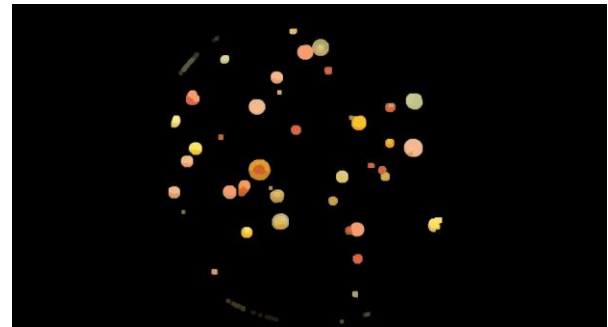
A análise do resultado do treino da IA feito usando um número N de épocas de treinamento, é realizada por meio de métricas de precisão, recall, mAP50 e mAP50-95.

### Identificação das colônias de bactérias

A extração de dados das imagens na região interna das placas de Petri foi possibilitada pelo uso de técnicas de Processamento Digital de Imagens. Após a identificação das placas de Petri com o algoritmo de inteligência artificial, as imagens foram submetidas aos processamentos de PDI para contabilizar a quantidade de colônias de microrganismos na imagem, bem como determinar sua posição na imagem pelos seus centros de massa.

Inicialmente, a imagem é processada de modo a segregar as colônias de microrganismos de todo o fundo da imagem, utilizando as técnicas de floodfill e morfologia matemática (GONZALEZ, .2010), deixando todas as estruturas que não são o objeto de interesse na cor preta (Fig. 5).

**Figura 5 - Imagem com as colônias de microrganismos destacadas.**



Fonte: Autoria própria.

Posteriormente, a imagem foi submetida a um processo de binarização, o qual permitiu destacar as colônias de microrganismos presentes, uniformizando seus pixels na cor branca, facilitando os processamentos posteriores (Fig. 6).

**Figura 6 - Imagem de placa de Petri binarizada.**

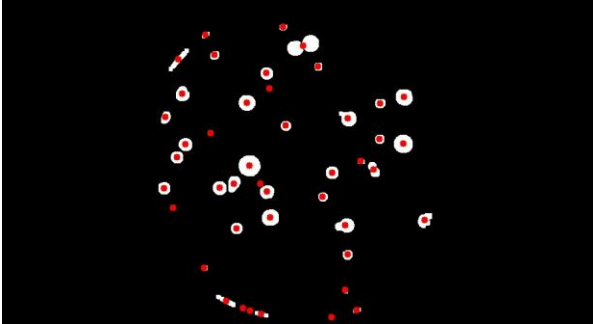


Fonte: Autoria própria.

Com as imagens binarizadas, foi possível aplicar os métodos para contagem e também para

determinar a posição dos centros de massa de cada colônia de microrganismos na imagem, como apresentado na Figura 7.

**Figura 7 - Centros de massa das colônias de microrganismos.**



Fonte: Autoria própria.

Esses processos automatizados de contagem e identificação dos objetos de interesse na imagem apresentam um caminho significativo na área da microbiologia, oferecendo uma solução precisa, eficiente e conveniente para análise de amostras microbiológicas.

### **Viabilizando a Utilização dos Resultados da Pesquisa no AWS Lambda**

O código desenvolvido para as operações de Processamento Digital de Imagens foi integrado ao serviço AWS Lambda (AMAZON, 2014), transformando-o em uma função pronta para processar imagens conforme a pesquisa é realizada. Essa implementação representa um passo importante para a utilização efetiva dos resultados obtidos, permitindo que a pesquisa seja aplicada em cenários do mundo real que integram os laboratórios de análise à infraestrutura de processamento em nuvem.

### **Resultados e Discussão**

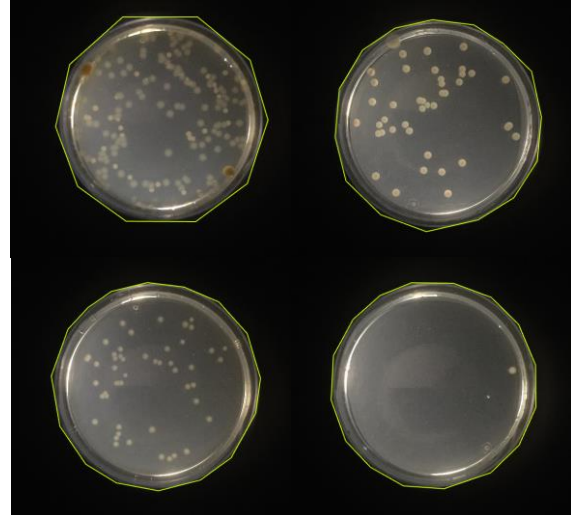
Os resultados envolvem a construção do banco de imagens marcadas para treino e análise de precisão da rede neural, na segmentação das placas Petri utilizando a rede neural treinada, e também na aplicação do processamento digital de imagens para identificação das colônias de bactérias características.

#### **Banco de imagens taguadas**

O uso da ferramenta Roboflow permitiu a marcação das imagens delimitando as placas de Petri, como observado na figura 8. O processo de marcação é importante para o treinamento de algoritmos de detecção de objetos, como no caso YOLO, a rede neural utilizada neste trabalho. A marcação semântica das placas de Petri permitiu que sua delimitação fosse mais precisa, fornecendo melhores informações sobre a forma, tamanho e posição das placas de Petri na imagem. Esse processo foi fundamental para

garantir a precisão e eficácia do modelo de IA na identificação das placas de Petri. No total, 258 imagens foram marcadas, consumindo um tempo médio de trabalho de aproximadamente 4 a 13 horas.

**Figura 8 - Marcação semântica das placas de Petri.**



Fonte: Disponível em:

<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.20109377.v2>.

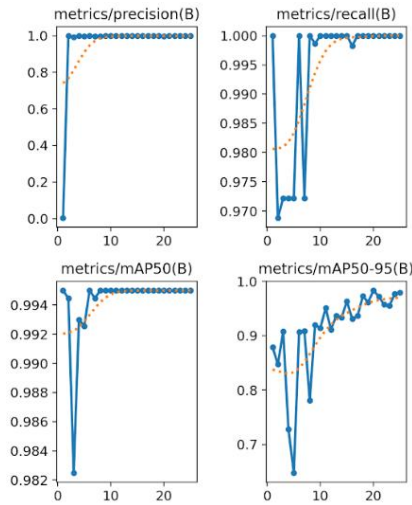
Acesso em 20 mar. 2024.

### **Resultados do treino da Rede Neural**

Os resultados do treino da rede neural demonstraram altos níveis de precisão e recall, com valores máximos alcançados em diversas épocas, além de índices elevados de mAP50 e mAP5-95, indicando a eficácia do modelo treinado.

Na precisão a rede conseguiu atingir o valor máximo (1.0) em 3 épocas, analisando também a recall, ou seja, a capacidade do modelo em identificar corretamente todos os exemplos positivos do conjunto de dados, é possível observar que o valor máximo (1.0) foi atingido a partir da época 10. Em mAP50, o valor máximo encontrado foi 0.995 e na mAP5-95 na época 20 atingiu o valor máximo de 0.983. Os resultados podem ser observados na Figura 9.

**Figura 9 - Gráficos das métricas analisadas.**



Fonte: Autoria própria.

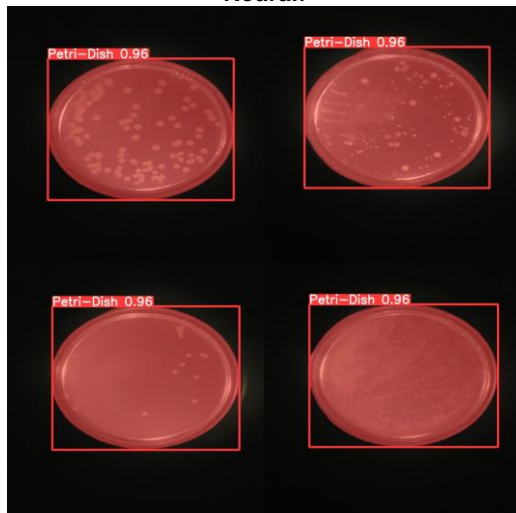
### Identificação das placas Petri

A partir do treinamento bem sucedido da rede neural com as imagens tagueadas, foi possível utilizar o modelo de inteligência artificial para identificar as placas de Petri na imagem de maneira satisfatória.

Ao analisar as imagens no conjunto de teste, formado por imagens que não foram utilizadas no treinamento, a rede neural YOLO conseguiu detectar com precisão acima de 85% a presença das placas de Petri, mesmo em quantidades variadas na mesma imagem e com diferentes condições de iluminação.

Esse resultado demonstra a eficiência e robustez do modelo treinado, tornando uma ferramenta valiosa para a identificação de placas de Petri em futuras análises microbiológicas. Exemplos são apresentados na Figura 10.

**Figura 10 - Placas de Petri identificadas pela Rede Neural.**



Fonte: Autoria própria.

### Conclusão

Neste trabalho foi desenvolvido um processo para contagem de colônias de bactérias em imagens digitais de placas Petri. Para identificação e segmentação das placas foi desenvolvida uma rede neural do modelo Yolov8. As imagens das placas segmentadas pela rede neural são submetidas a seguir a um conjunto de operações de processamento digital de imagens que resulta na segmentação e contagem das bactérias. Os resultados mostram que o processo apresenta precisão tanto na segmentação das placas quanto na contagem das colônias. Com base nestes resultados pode-se concluir que o método pode servir de base para o desenvolvimento de programas mais precisos com o estudo de uma quantidade maior de imagens, e a aplicação realizada para o caso exemplo da bactéria pode ser estendido para outras espécies.

### Agradecimento

A pesquisa foi apoiada como projeto de iniciação PIC do Centro Universitário Barão de Mauá, a quem agradecemos o incentivo que tornou a pesquisa possível.

### Referências

AMAZON. **AWS Lambda Documentation.**

Disponível em:

<https://docs.aws.amazon.com/lambda/>. Acesso em: 21 mar.2024.

DIOGO, B.; RIBEIRO, M. P.; SCARPA, N. F. **Segmentação e identificação de bactérias em placas de Petri.** In: Anais do 31º Siicusp, 2023, Ribeirão Preto. Ribeirão Preto: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, 2023. Disponível em:

<https://uspdigital.usp.br/siicusp/siicPublicacao.jsp?codmnu=7210>. Acesso em: 8 mar. 2023.

GONZALEZ, Rafael C.; WOODS, Richard E. **Processamento digital de imagem.** 3. ed. São Paulo: Pearson, 2010. xiv, 954 p.

ROBERTS, E. F. S. **Petri dish.** Disponível em: <http://somatosphere.net/2014/petri-dish.html>. Acesso em: 11 set. 2023.

RODRIGUES, P. M.; LUIS, J.; TAVARIA, F. K. **Petri dishes digital images dataset of e.coli, s.aureus and p.aeruginosa.figshare.** 21 jun. 2022. Disponível em:

<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.20109377.v2>.

Acesso em: 7 mar. 2024

Ultralytics. **YOLOv8 - Ultralytics YOLOv8**

**Documentation.** 2023. Disponível em:

<https://docs.ultralytics.com/models/yolov8/>.

Acesso em: 25 nov. 2023.

Splabor. **Qual a função da placa de Petri no laboratório?** Disponível em:

<https://www.splabor.com.br/blog/placa-de-petri/qual-a-funcao-da-placa-de-petri-no-laboratorio/#:~:text=As%20placas%20de%20Petri%20s%C3%A3o%20um%20utens%C3%ADlio%20comumente%20usado%20em,de%20cultura%20l%C3%ADquidos%20ou%20semis%C3%B3lidos>

.. Acesso em: 6 mar. 2024

SANTOS, Willgner Ferreira. **Detecção e medição automática de halos pelo método disco-difusão (Kirby-bauer) utilizando aprendizado profundo e visão computacional.**

2022. 89 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Computação) - Escola Politécnica, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2022. Disponível em:

<https://repositorio.pucgoias.edu.br/jspui/handle/123456789/4343>. Acesso em: 7 mar. 2024.

JPO Lima, JVM Oliveira, RC Oliveira. 2019.

**Distributed Artificial Intelligence for Recognition and Position Validation of Printed Circuit Board.** Disponível em:

[https://www.researchgate.net/profile/Jean-Lima-4/publication/341700562\\_Distributed\\_Artificial\\_Intelligence\\_for\\_Recognition\\_and\\_Position\\_Validation\\_of\\_Printed\\_Circuit\\_Board/links/5ecf3bbd4585152945183646/Distributed-Artificial-Intelligence-for-Recognition-and-Position-Validation-of-Printed-Circuit-Board.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jean-Lima-4/publication/341700562_Distributed_Artificial_Intelligence_for_Recognition_and_Position_Validation_of_Printed_Circuit_Board/links/5ecf3bbd4585152945183646/Distributed-Artificial-Intelligence-for-Recognition-and-Position-Validation-of-Printed-Circuit-Board.pdf). Acesso em: 8 mar. 2024.

**Detecção de Objetos com YOLO – Uma abordagem moderna.** Disponível em:

<https://www.example.com/deteccao-de-objetos-com-yolo-uma-abordagem-moderna>.

Acesso em: 8 mar. 2024.

**RoboFlow Train 3.0: Utilizado para anotação e pré-processamento de imagens.** Versão mais recente acessada em 22 nov. 2023. Disponível

em: <https://roboflow.com>