SISTEMA COMPUTACIONAL PARA LA DETECCIÓN DE GLÓBULOS ROJOS EN IMÁGENES MICROSCÓPICAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS

SOFTWARE TOOL FOR RED BLOOD CELLS DETECTION IN MICROSCOPIC BLOOD CELLS IMAGES



AUTOR

LIZETH ANDREA CASTELLANOS BELTRAN Ingeniera de Sistemas *Universidad Industrial de Santander castellanoslizan@gmail.com COLOMBIA

AUTOR

LOLA XIOMARA BAUTISTA ROZO
Ingeniera de Sistemas, MSc. en
Ingeniería de Computadoras
*Universidad Industrial de Santander
Directora del Grupo de Investigación
en Ingeniería Biomédica.
Escuela de Ingeniería de Sistemas e
Informática
lxbautis@uis.edu.co
COLOMBIA

AUTOR

LUIS EDUARDO HASBON REYES Ingeniero de Sistemas *Universidad Industrial de Santander luishasbon@gmail.com COLOMBIA

INSTITUCIÓN

*UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER UIS Universidad Pública Ciudad Universitaria Calle 9 Carrera 27 COLOMBIA

INFORMACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN O DEL PROYECTO: Este artículo presenta una herramienta computacional para la detección de glóbulos rojos en imágenes microscópicas sangre, utilizando técnicas de procesamiento digital de imágenes.

RECEPCIÓN: 1 de Octubre de 2012 **ACEPTACIÓN:** 6 de Noviembre de 2012

TEMÁTICA: Aplicaciones en Ingeniería Biomédica.

TIPO DE ARTÍCULO: Artículo de Investigación Científica y Tecnológica.

RESUMEN ANALÍTICO

El análisis de los glóbulos rojos es utilizado para la identificación y seguimiento de algunas enfermedades en el área de hematología e involucra dos procesos: el conteo y la inspección visual de las células. Con el ánimo de dar soporte al proceso de lectura visual que realiza el especialista, se propone un sistema computacional que permita realizar la detección de los glóbulos rojos, haciendo uso de la conceptualización matemática del Procesamiento Digital de Imágenes, a través del diseño e implementación de operadores bajo el paradigma de la Programación Orientada a Objetos. Este sistema cuenta con una interfaz gráfica agradable al usuario, con la cual se realizó un conjunto de pruebas de sensibilidad y especificidad del método de detección implementado. Se adquirieron 50 imágenes microscópicas a un aumento de 100x. Se obtuvo una sensibilidad de 84.78% y una especificidad de 92.89%.

PALABRAS CLAVES: Glóbulos Rojos, Hematología, Procesamiento Digital de Imágenes, Sistema Computacional, Operadores

ANALYTICAL SUMMARY

Red Blood Cells are analyzed for detection and monitoring of RBC related diseases, it involves two procedures: RBC counting and visual inspection of cells. Looking forward to support the process of visual analysis done by the specialist, it is proposed a computational system able to detect the red blood cells. It uses mathematical basis from Digital Signal Processing, through the design and implementation of operators under the Object Oriented Programming paradigm. The system has a friendly graphical user interface, with which were done a set of tests to measure sensibility and specificity of the implemented detection method. There were acquired 50 microscopic images at a zoom of 100x. Sensibility was 84.78% and specificity was 92.89%.

KEYWORDS: Red Blood Cells, Hematology, Digital Image Processing, Computational System, Operators

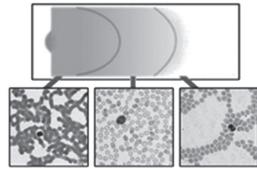
INTRODUCCIÓN

El Procesamiento Digital de Imágenes es una herramienta ampliamente usada en la Medicina, con el fin de extraer información útil que no puede ser detectada a simple vista.

En el área de la hematología, se hacen análisis bajo microscopio con el fin de verificar el estado de las células y apoyar el proceso de conteo celular sanguíneo. Esto se hace a partir de un frotis de sangre periférica [1], como se observa en la Figura 1.

En el extendido sanguíneo se pueden observar elementos con forma definida como los glóbulos rojos o eritrocitos que son los más abundantes, los glóbulos blancos y las plaquetas [2].

FIGURA 1. Frotis de sangre (Ampliación zona de morfología)



Fuente: http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/corepages/blood/blood.htm

En esta investigación se ha propuesto realizar la detección de glóbulos rojos en imágenes microscópicas de células sanguíneas; para esto se abarcaron las tres etapas principales del procesamiento digital de imágenes: adquisición, pre-procesamiento y segmentación [3].

La implementación de los algoritmos necesarios para cubrir dichas etapas de procesamiento se hizo siguiendo el enfoque computacional propuesto en [4], CSPS (por sus siglas en inglés, Computational Signal Processing System). CSPS establece que independiente de cuál sea la fuente de los datos, éstos pueden ser procesados por métodos estándares, cuya fundamentación matemática puede ser traducida a cualquier lenguaje de programación.

El artículo está organizado de la siguiente manera: en la sección 1 se presenta la fundamentación teórica del sistema computacional para el procesamiento de imágenes. En la sección 2 se describe el procedimiento para la adquisición adecuada de las imágenes microscópicas. En la sección 3 se presentan los detalles de diseño del método de detección de glóbulos rojos. En la sección 4 se describe la implementación siguiendo el paradigma de programación orientada a objetos. En la sección 5 se presentan los resultados de sensibilidad y especificidad del método de detección. Finalmente en la sección 6 se presentan las conclusiones y recomendaciones para futuras versiones del sistema.

La metodología utilizada abarca las fases principales del procesamiento digital de imágenes como son la adquisición, el preprocesamiento y la segmentación, combinadas con el enfoque CIPS (Sistema Computacional para el Procesamiento de Imágenes) para el diseño e implementación del algoritmo.

1. CIPS: SISTEMA COMPUTACIONAL PARA EL PROCESAMIENTO DE IMÁGENES

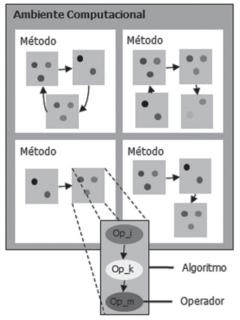
El enfoque de CIPS consiste en tomar la representación matemática de las operaciones básicas del procesamiento digital de imágenes, tales como transformaciones, conversión a escala de gris, entre otras, y encapsularlas en unidades funcionales básicas denominadas *operadores*, los cuales son susceptibles de ser implementados en cualquier lenguaje de programación. Estos operadores son sistemas lineales invariantes en el tiempo (LIT), como se ilustra en la Figura 2.

FIGURA 2. Diagrama de bloques de Operador



La sucesión lógica de varios operadores conforman un *algoritmo*, y a su vez, la sucesión lógica de varios algoritmos crean un *método*. El conjunto de métodos que se forma siguiendo este enfoque se denomina *ambiente computacional*. Esto se describe gráficamente en la Figura 3.

FIGURA 3. CIPS – Ambiente Computacional



Fuente: Modificado de [5]

La fundamentación matemática del procesamiento digital de imágenes proviene de la teoría de conjuntos, la teoría de grupos y de estructuras algebraicas. Las imágenes digitales son elementos que pertenecen al espacio vectorial de señales de dos dimensiones, que contiene funciones de la forma:

ECUACIÓN 1.

S:
$$Z_{N0} \times Z_{N1} \longrightarrow C$$

 $[n_0, n_1] \longmapsto S[n_0, n_1]$

Fuente: Tomado de [5]

Estas señales pueden ser representadas como matrices de tamaño $N_0 \times N_1$, como se muestra en la ecuación 2, las cuales a su vez se representan como estructuras de datos de arreglos de dos dimensiones.

Para la implementación real de estas estructuras matemáticas se ha optado por usar el paradigma de Programación Orientada a Objetos (POO), con la cual, las señales y operadores se diseñan como clases con sus respectivos atributos y métodos.

ECUACIÓN 2.

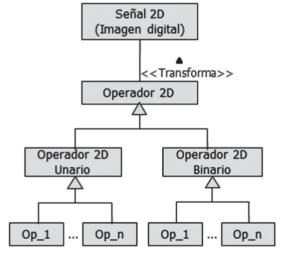
$$\mathsf{S} = \begin{bmatrix} S[0,0] & S[0,1] & \dots & S[0,N_1-1] \\ \\ S[1,0] & S[1,1] & \cdots & S[1,N_1-1] \\ \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \\ S[N_0-1,0] & S[N_0-1,0] & \cdots & S[N_0-1,N_1-1] \end{bmatrix}$$

Fuente: Tomado de [5]

Siguiendo con lo propuesto en [5], el diagrama de clases para el diseño de CIPS se muestra en la Figura 4.

En las siguientes secciones se describe el proceso que se usó para la adquisición y tratamiento de las imágenes microscópicas que serían analizadas siguiendo el enfoque de CIPS.

FIGURA 4. CIPS – Diagrama de Clases



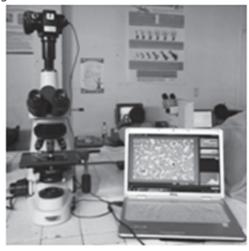
Fuente: Modificado de [5]

2. ADQUISICIÓN DE LAS IMÁGENES

Las imágenes fueron adquiridas a partir de diferentes extendidos de sangre periférica humana teñidas previamente con tinte Wright, dichas muestras fueron facilitadas por el banco de sangre del Hospital Universitario de Santander.

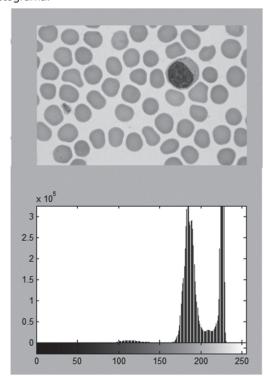
La captura se realizó en el Laboratorio de Biología Reproductiva de Vertebrados de la Universidad Industrial de Santander, se usó un microscopio triocular Nikon eclipse 55i, adaptado a una cámara digital EOS REBEL 1000D con conexión por interfaz USB a un computador con software especializado. El aumento de captura fue de 100x para permitir mejor observación y separación entre las células. Ver Figura 5.

FIGURA 5. Montaje usado para la Adquisición de las Imágenes



Como se muestra en la Figura 6 el histograma de la imagen muestra tres picos característicos que representan los elementos presentes. El primer pico corresponde a los pixeles de los elementos más oscuros como lo son los núcleos de glóbulos blancos y las plaquetas, el segundo pico corresponde a los glóbulos rojos que son los más abundantes y centro de esta investigación y el tercer pico corresponde a los pixeles del fondo.

FIGURA 6. Imagen obtenida a 100x de aumento y su histograma.



3. DISEÑO DEL MÉTODO DE DETECCIÓN DE GLÓBULOS ROJOS

El proceso de diseño del método abarca las etapas de preprocesamiento y segmentación de las imágenes adquiridas.

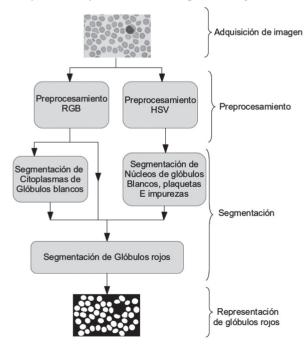
El objetivo inicial del preprocesamiento es mejorar la calidad de la imagen adquirida. Esta etapa es necesaria debido a que en las imágenes microscópicas es frecuente encontrar defectos como: imágenes ruidosas, iluminación no uniforme y variaciones en la intensidad causadas por las condiciones de tintura [6].

La segmentación se refiere al proceso de particionar una imagen digital dentro de múltiples regiones. Su objetivo es simplificar y/o cambiar la representación de la imagen en algo más significativo y fácil de analizar [7].

En el desarrollo de esta investigación se hace uso de técnicas para el procesamiento digital de imágenes presentadas en [8] y se hace uso especial de las técnicas que han sido utilizadas en imágenes de histología [9].

La Figura 7 presenta el diseño del método computacional propuesto para la detección de glóbulos rojos, siguiendo el modelo de CIPS. En este caso, los bloques representan los diferentes algoritmos implementados para efectuar las fases de procesamiento de las imágenes microscópicas.

FIGURA 7. Diagrama de bloques del método computacional para detección de glóbulos rojos.



Las Figuras 8 y 9 ilustran el algoritmo de preprocesamiento y el algoritmo de segmentación respectivamente.

En el algoritmo de preprocesamiento se aplicaron operadores de filtros para reducir el ruido de la imagen, y operadores de morfología matemática para mejorar las condiciones de iluminación de las imágenes a procesar.

A partir de la información del histograma obtenido por el operador de umbralización se aplicaron operadores de segmentación basados en el valor umbral, los cuales se combinaron con operadores de morfología matemática para separar los glóbulos rojos de los demás elementos presentes en la imagen. Ver Figura 9.

FIGURA 8. Operadores aplicados en la etapa de preprocesamiento

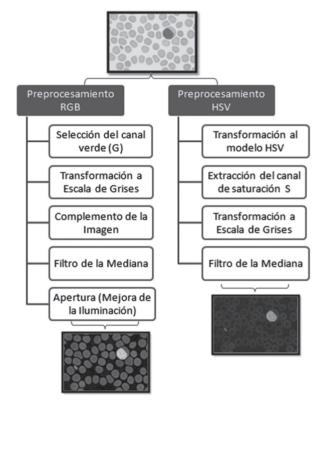
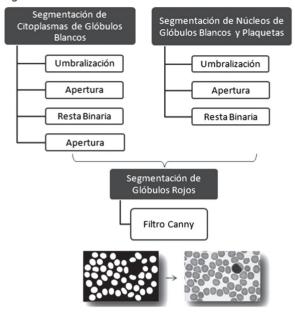


FIGURA 9. Operadores aplicados en la etapa de segmentación



En [10] se encuentra el estudio detallado del estado del arte llevado a cabo para la selección de las técnicas de preprocesamiento y segmentación aplicadas en la presente investigación.

Se decidió utilizar técnicas de morfología matemática por su rapidez en implementación y ejecución, además no requieren de una fase inicial de entrenamiento, ni un número elevado de iteraciones que requieren otros métodos como lo son el uso de transformadas [11]. Los operadores de morfología matemática, en especial los de apertura, con elementos estructurantes tipo disco han sido utilizados en varios estudios para la estimación del tamaño de las células sanguíneas [12]. En este trabajo se usó la apertura morfológica en la fase de preprocesamiento para obtener una máscara aproximada del fondo con el fin de mejorar la iluminación; también se usó en la etapa de segmentación para estimar el tamaño de los residuos pequeños con el fin de eliminarlos posteriormente y finalmente se usó para estimar el tamaño de los citoplasmas.

Se decidió trabajar con el modelo de color RGB y HSV ya que a través del análisis de contraste en los histogramas de los diferentes canales, se encontró que estos modelos brindan mayor cantidad de información por pixel de los objetos de interés. Del modelo RGB se extrajo el canal verde debido a que presentó mayor contraste y distribución del histograma frente al canal rojo y azul. El canal S de saturación se extrajo para diferenciar mejor los núcleos de los glóbulos blancos y las plaquetas del fondo de las imágenes, pues presentaban coloración más saturada.

Luego de la selección de los canales, se hace la transformación a escala de grises para normalizar la diferencia de los valores en la intensidad de los pixeles y reducir el costo computacional del algoritmo. Se aplica un operador de complemento en la imagen para establecer las tonalidades del fondo más oscuras y lograr que los objetos de interés presenten intensidades claras, con el fin de facilitar la utilización de los operadores morfológicos en los pasos posteriores. Se utilizó el operador de filtrado por mediana, para suavizar la imagen, reduciendo el ruido proveniente de la etapa de adquisición sin disminuir la calidad original de los bordes y las texturas en los objetos.

El criterio de selección del umbral fue escogido de forma experimental con las imágenes capturadas; una vez seleccionado se estableció de forma automática dentro del algoritmo.

Los tipos de elementos estructurantes se definieron de forma analítica para cada operación morfológica y su tamaño se estableció de forma experimental al trabajar sobre la muestra de imágenes seleccionada y los objetos de interés, es decir los glóbulos rojos, blancos y plaquetas.

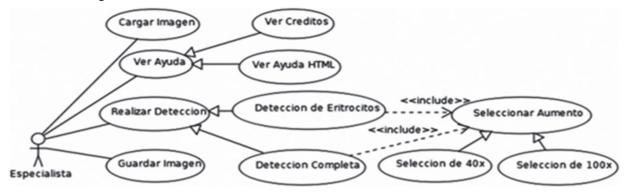
4. IMPLEMENTACIÓN

Una vez diseñado el método de detección, se procedió a realizar la implementación del ambiente computacional utilizando el entorno de desarrollo Visual Studio 2010, con el lenguaje C# y la biblioteca de funciones OpenCV bajo las librerías de Emgu. Este ambiente además cuenta con una interfaz gráfica creada pensando en una fácil manipulación por parte del usuario.

4.1 DIAGRAMAS DE CASOS DE USO

En la Figura 10 se presenta la descripción de los diagramas de casos de uso que se crearon para orientar el desarrollo y la planificación de las características del ambiente computacional.

FIGURA 10. Diagrama de casos de uso.

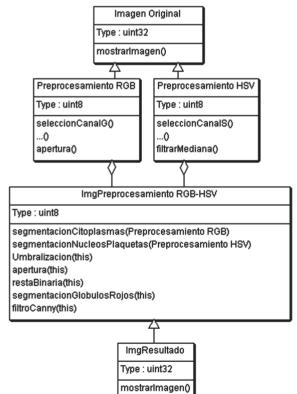


El caso de uso "Realizar Detección", a través de los casos de uso "Detección de Eritrocitos" y "Detección Completa" encapsula la funcionalidad del método de detección de glóbulos rojos descrito en la sección 3.

4.2 DIAGRAMAS DE CLASES

Como se expuso en la sección 1, los operadores aplicados en la etapa de preprocesamiento y en la etapa de segmentación, fueron diseñados como una jerarquía de clases de operadores, como se ilustra en la Figura 11.

FIGURA 11. Diagrama de clases para el preprocesamiento y segmentación de las imágenes.



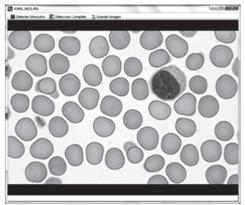
4.3 INTERFAZ GRÁFICA

La interfaz gráfica consta de una ventana principal que se mantiene durante la sesión del usuario, como se muestra en la Figura 12, y una ventana secundaria donde se realiza la detección celular y visualización de resultados, como se muestra en la Figura 13 y la Figura 14

FIGURA 12. Ventana principal de la herramienta



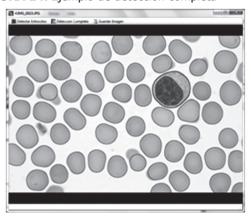
FIGURA 13. Ejemplo de detección de Eritrocitos (glóbulos rojos).



Con la opción Cargar Imagen se accede al directorio de la imagen que se desea analizar. La herramienta soporta los formatos JPG, PNG ó BMP ya que estos son los formatos que normalmente arrojan las cámaras de adquisición.

Una vez seleccionada la imagen, se activa la ventana secundaria donde se realiza la visualización y se dispone de un menú para realizar las operaciones de detección. Se plantearon dos tipos de detección: la Detección de Eritrocitos y la Detección Completa que muestra la detección de los eritrocitos y leucocitos (núcleos y citoplasmas). Se determinó un borde de color rojo para identificar los glóbulos rojos, un borde de color negro para identificar sus núcleos, como se muestra en la Figura 13 y la Figura 14.

FIGURA 14. Ejemplo de detección completa



5. PRUEBAS

Para verificar la correcta funcionalidad del método de detección de glóbulos rojos, se seleccionaron 50 imágenes a 100x de aumento teniendo en cuenta que representarán los tres tipos de células sanguíneas e incluso manchas y/o partículas. La Tabla 1 indica los parámetros tenidos en cuenta en la detección para los calcular los índices de sensibilidad y especificidad y en la Ecuación 3 se presentan los indicadores obtenidos para el total de imágenes.

TABLA 1. Descripción de los Indicadores

Indicador	Descripción
VP (Verdaderos +)	Glóbulos rojos detectados
VN (Verdaderos -)	Organismos que NO son GR, y NO se detectaron como GR
FP (Falsos +)	Organismos que NO son GR y SE detectaron como GR
FN (Falsos -)	Glóbulos Rojos NO detectados

ECUACIÓN 3. Cálculos de sensibilidad y especificidad del algoritmo.

Sensibilidad =
$$\frac{VP}{VP + FN} = \frac{1650}{1650 + 296} * 100 = 84,78\%$$

Especificidad = $\frac{VN}{VN + FP} = \frac{157}{157 + 12} * 100 = 92,89\%$

La sensibilidad indica la capacidad del algoritmo para detectar como glóbulos rojos aquellas células que realmente lo son, es decir la proporción de VP (verdaderos positivos); para esto en cada una de las 50 imágenes se realizó la validación de los glóbulos rojos detectados correctamente y de aquellos que no se detectaron por el algoritmo. Totalizando estos valores se obtuvo 1650 y 296 glóbulos rojos respectivamente, lo cual arroja un 84,78% de sensibilidad.

La especificidad indica la capacidad de no detectar como glóbulos rojos a los organismos que no lo son, es decir la proporción de VN (verdaderos negativos); para su cálculo se realizó la validación de los elementos que no eran glóbulos rojos y que el algoritmo no detectó como tal junto con aquellos elementos que se detectaron erróneamente como glóbulos rojos. Totalizando estos valores se obtuvo 157 y 12 elementos respectivamente, lo cual arroja un 92,89% de especificidad.

Un 84,78% de sensibilidad, evidencia que los defectos en la tinción del frotis ocasionan que en algunos casos el algoritmo no detecte correctamente la totalidad de glóbulos rojos, sin embargo la especificidad del 92,89% indica que la gran mayoría de las células que fueron detectadas como glóbulos rojos, en realidad lo eran.

6. DISCUSIÓN

La no existencia de una base de datos de imágenes estándar en el área de hematología dificulta comparar resultados de forma cuantitativa con otros métodos ya que cada uno de ellos ha utilizado datos de entrada distintos respecto a otras investigaciones. Algunos trabajos evalúan sus métodos de forma cualitativa observando el comportamiento en un grupo de imágenes [13]. En [14], la finalidad fue crear un método de detección que no se viera afectado por la variabilidad en las condiciones de iluminación de la imagen, las pruebas realizadas también fueron realizadas observando el comportamiento ante varias entradas.

El tipo de microscopio utilizado en la captura también afecta la calidad de la imagen y los resultados esperados del algoritmo. En [15] se obtuvo un 95.7% glóbulos rojos detectados correctamente, sin embargo los autores son claros en afirmar que las óptimas condiciones de las imágenes generadas por un microscopio electrónico,

contribuyeron a la obtención de resultados satisfactorios y que con otro tipo de imágenes no se esperaría el mismo comportamiento.

Otros métodos de validación están basados en el cálculo de los falsos positivos, falsos negativos, verdaderos positivos y verdaderos negativos. En [16] se implementó un clasificador de células sanguíneas basado en el método k-means y obtuvo un 98% de aciertos. El autor señala que los tiempos de procesamiento y análisis son altos y que es un método sensible a las condiciones de iluminación de la imagen.

En algunas investigaciones más específicas que usan imágenes de células sanguíneas infectadas con malaria, los autores han validado sus resultados comparándolos con métodos manuales ya que en estos casos se realiza un conteo manual por parte del especialista y es posible comparar resultados [12].

7. CONCLUSIONES

Las condiciones de captura de las imágenes microscópicas determinan la complejidad en el preprocesamiento y la segmentación. Para este trabajo la no existencia de una base de datos de imágenes estándar hizo necesario llevar a cabo este proceso por parte de los autores. Se recomienda la creación de una base de datos de imágenes hematológicas estándar y de libre uso para efectos de pruebas en esta área.

Con las pruebas realizadas se encontró que la combinación de operadores de morfología matemática con operadores basados en el histograma constituye un método computacional efectivo para la segmentación de células sanguíneas.

El procesamiento digital de imágenes constituye un campo de investigación útil que permite crear métodos semiautomáticos que pueden servir de apoyo a los procesos médicos basados en imágenes. A partir de los resultados obtenidos en esta investigación, se deja la base para extraer características de los glóbulos rojos y de esa forma apoyar el diagnóstico.

8. AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la Universidad Industrial de Santander, al Ing. Andrés Eduardo Gómez cuya experiencia dio origen a este trabajo. A los especialistas en hematología: Dr. Ernesto Rueda y al Dr. Nelson Daza pertenecientes al Departamento de Oncología y al Banco de Sangre de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander; de igual forma al Laboratorio de Biología

Reproductiva de Vertebrados, y al Grupo de Investigación en Ingeniería Biomédica de la Universidad Industrial de Santander junto con Biosys Ltda.

9. REFERENCIAS

- [1] FORD, Brian. From Dilettante to Diligent Experimenter, a Reappraisal of Leeuwenhoek as microscopist and investigator. BiologyHistory. Diciembre 1992.
- [2] PÉREZ, José y GÓMEZ, David. Hematología: La sangre y sus enfermedades. México: Mc Graw Hill, 2005. 272 pag.
- [3] MUÑOZ, María y MORÓN, Cecilia. Manual de Procedimientos de Laboratorio en Técnicas Básicas de Hematología. Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública del Perú, serie de normas técnicas número 40 edition, 2005.
- [4] PAREDES, Marlio. VILLAMIZAR, Jorge. BAUTISTA, Lola. RODRIGUEZ, Domingo. La Estructura del Álgebra de Señales Computacional y sus Aplicaciones en Procesamiento de Imágenes Digitales. Revista DYNA. 78,166, p. 118-132. 2011.
- [5] BAUTISTA, Lola. RODRIGUEZ, Domingo. Web-Based Data Processing for Environmental Surveillance Monitoring Applications. Tesis de Maestría en Ingeniería de Computadoras. Universidad de Puerto Rico-Recinto Universitario de Mayaqüez. 2007. 90 paq.
- [6] SILVA, Edwin. 2006, Detección de cáncer de cuello uterino usando técnicas de procesamiento y análisis de imágenes microscópicas. Bucaramanga, 2006, 172 p. Tesis de Maestría (Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicomecánicas. Escuela de Ingeniería Eléctrica, Electrónica y Telecomunicaciones.
- [7] ADOLLAH, Robiyanti. MASHOR, M.Y. MOHD NASIR, N.F.ROSLINE, H. MAHSIN, H. and ADILAH, H. Blood Cell Image Segmentation: A Review. En: 4th Kuala Lumpur International Conference on Biomedical Engineering, vol. 21, pp. 141-144. Malaysia, 2008.
- [8] GONZÁLEZ, Rafael. WOODS, Richard y EDDINS, Steven. Digital Image Processing using Matlab. New Jersey: Prentice Hall, 2004. 609 pag.
- [9] ROJAS, Javier. Segmentación y reconocimiento de patrones en imágenes de histología. Octubre 2005.

- [10] CASTELLANOS, Lizeth. HASBÓN, Luis. BAUTISTA, Lola. Detección de Glóbulos Rojos usando Técnicas de Procesamiento y análisis de imágenes microscópicas. En: Primer Seminario Taller Latinoamericano de Instrumentación, Control y Telecomunicaciones SICOTEL (2012: Universidad del Quindío, Armenia)
- [11] GUAN, Pearl. YAN, Hong. Blood Cell Image Segmentation Based on the Hough Transform and Fuzzy Curve Tracing. Machine Learning and Cybernetics (ICMLC), International Conference on , vol.4, no., pp.1696-1701, 10-13 July 2011.
- [12] BERGE, Heidi. TAYLOS, Dale. KRISHNAN, Sriram. DOUGLAS, Tania. Improved Red Blood Cell Counting in Thin Blood Smears. Biomedical Imaging: From Nano to Macro, IEEE International Symposium on , pp.204-207, March 30 2011-April 2 2011.

- [13] SHARIF, J. MISWAN, M. NGADI, M. SALAM, M. MAHADI, B. Red Blood Cell Segmentation Using Masking and Watershed Algorithm: A Preliminary Study. Biomedical Engineering (ICoBE), International Conference on , vol., no., pp.258-262, 27-28 Feb. 2012.
- [14] KAREEM, S. MORLING, R. KALE, L. A Novel Method to Count the Red Blood Cells in Thin Blood Films. Circuits and Systems (ISCAS), IEEE International Symposium on , vol., no., pp.1021-1024, 15-18 May 2011.
- [15] VROMEN, Joost. MCCANE, Brendan. Red Blood Cell Segmentation from SEM Images. Image and Vision Computing New Zealand. IVCNZ '09. 24th International Conference, vol., no., pp.44-49, 23-25 Nov. 2009.
- [16] ZAMBRANO, Carlos. Sistema de Visión Artificial para la Clasificación de Muestras Hematológicas. Popayán. Trabajo de grado (Ingeniero Físico). Universidad del Cauca. Unicauca. 2005.