

Segmentação do *Mycobacterium Tuberculosis* através de Novas Técnicas de Classificação de *Pixel*

Pamela C. Levy¹, Clahildek M. Xavier¹, Marly G. F. Costa¹, Cícero F. F. C. Filho¹,
Luciana B. M. Fujimoto², Julia I. do N. Salem José²

¹Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Tecnologia Eletrônica e da Informação –
Universidade Federal do Amazonas (CETELI/UFAM)
CEP 69077-000 – Manaus – AM – Brazil

²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)
Manaus – AM – Brazil

{pamela.levy, clahildek, olfujimoto}@gmail.com, {mcosta,
ccosta}@ufam.edu.br, salem@inpa.gov.br

Abstract. *This paper presents a new method for segmentation of tuberculosis bacillus in conventional sputum smear microscopy. The method comprises two main steps. In the first step, a scalar feature selection is performed. In the second step, two types of pixel classifiers are optimized, using these selected features as inputs: a support vector machine classifier and a feedforward neural network classifier. The inputs for classifiers are selected from features extracted from four color spaces: RGB, HSI, YCbCr and Lab. A sensitivity of 94% is achieved in pixel classification. Nevertheless, as shown, further steps for noise reduction are necessary to minimize the bacilli classification errors.*

Resumo. *Este artigo descreve um novo método para segmentação de bacilos da tuberculose em baciloscopia de campo claro. O método compreende duas etapas principais. Na primeira etapa é realizado uma seleção escalar de características. Na segunda etapa, usando as características selecionadas como entrada, dois classificadores de pixel são otimizados: uma máquina de vetores de suporte e um classificador neural. As entradas para os classificadores são selecionadas a partir de características extraídas de quatro espaços de cor: RGB, HSI, YCbCr e Lab. Uma sensibilidade de 94% é alcançada na classificação dos pixels. No entanto, novas etapas para a redução de ruído são necessárias para minimizar os erros de classificação dos bacilos.*

1. Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença contagiosa que acomete, geralmente, os pulmões e é causada, na maioria dos casos, pelo *Mycobacterium tuberculosis*. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), no ano de 2010, 8,8 milhões de pessoas no mundo foram infectadas e 1,4 milhões destas pessoas morreram de TB [WHO 2012]. Apesar do número de casos de doenças e mortes por TB terem caído ao longo dos últimos seis anos, a doença ainda persiste como grave problema de saúde nos países em desenvolvimento onde, em 2010, ocorreram 95% das mortes por TB [WHO 2012].

A OMS sugere a baciloscopia como o método de diagnóstico principal para TB. Em países em desenvolvimento, devido ao baixo custo, prefere-se a baciloscopia de

campo claro à baciloscopia de fluorescência. Devido à sua alta sensibilidade, a última é o método utilizado em países desenvolvidos [Luna 2004].

Diversas técnicas de reconhecimento de padrão em imagens baciloscópicas obtidas por meio da microscopia de campo claro têm sido registradas na literatura: [Costa 2008], [Sadaphal 2008], [Raof 2008], [Sotaquirá 2009], [Khutlang 2009], [Makkapati 2009] e [Khutlang 2010]. Como pioneiros em segmentação de bacilos da TB em imagens de microscopia de campo claro, Costa *et al.* (2008) utilizaram a imagem de diferença R-G (*Red – Green*: componentes do espaço de cor RGB) como ponto chave do método de segmentação. Sadaphal *et al.* (2008) e Raof *et al.* (2008) também utilizaram informações de cor, do espaço de cor RGB (*Red, Green, Blue – Vermelho, Verde, Azul*), para segmentar o *Mycobacterium tuberculosis*. Além disso, Sadaphal *et al.* (2008) utilizaram análise de forma e tamanho. O método de segmentação proposto por Sotaquirá *et al.* (2009) utiliza a componente Cr do espaço de cor YCbCr (*Luminance, Chrominance Blue, Chrominance Red – Luminância, Crominância Azul, Crominância Vermelha*) e a componente a do espaço de cor Lab (L = Luminosidade, a = tonalidade verde-vermelha e b = tonalidade azul-amarela). A técnica consiste em calcular os valores de limiar para as componentes Cr e a, baseados na primeira derivada do histograma. Makkapati *et al.* (2009) segmentaram os bacilos por limiarização da componente H do espaço de cor HSV (*hue, saturation, value – matiz, saturação, valor*), escolhendo uma faixa adaptativa apropriada baseada na imagem de entrada.

Khutlang *et al.* (2010) utilizaram classificadores de *pixel*, no espaço de cor RGB, para segmentar bacilos em imagens de microscopia de campo claro. Em [Khutlang 2009], foram empregadas duas etapas de classificação. Na primeira etapa, uma classificação de pixels, foi utilizado o algoritmo de Análise de Componentes Principais (PCA - *Principal Component Analysis*) e os classificadores de *pixel*: Gaussiano e Mistura de Gaussianas. Na segunda etapa, para remoção de ruídos, e para identificar objetos no formato de bastonete, foram utilizados classificadores com entradas invariantes a mudanças geométricas: classificador kNN; Gaussiano; Mistura de Gaussianas; e o algoritmo PCA. Combinações de classificadores, tais como o classificador de *Bayes*, regressão linear e discriminante quadrático, também foram utilizadas para obter uma melhor remoção dos ruídos.

Este artigo propõe um novo método para segmentação de bacilos em imagens de baciloscopia de campo claro. Essa segmentação utilizou classificadores de *pixel*. Os *pixels* foram classificados como pertencentes ao bacilo ou pertencentes ao fundo. As variáveis de entrada para os classificadores foram selecionadas a partir das componentes dos seguintes espaços de cor: RGB, HSI (*hue, saturation, intensity – matiz, saturação, intensidade*), YCbCr e Lab. A seleção do conjunto ótimo de variáveis foi feita utilizando a técnica de seleção escalar de características. As técnicas de classificação empregadas foram uma máquina de vetores de suporte (SVM - *support vector machine*) e uma rede neural multicamada treinada pelo algoritmo *Backpropagation*.

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais

Foi utilizado um total de 120 imagens com resolução de 2816x2112 *pixels*, obtidas de campos de lâminas com esfregaço de 12 pacientes. As lâminas foram preparadas utilizando o método de coloração de *Kinyoun*. As imagens foram capturadas a partir de

uma câmera digital modelo Canon PowerShot A640 de 10 *megapixels*, acoplada a um microscópio ótico de campo claro da marca Zeiss Axioskop 40. As lâminas foram preparadas no Laboratório de Micobacteriologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, Brasil. As imagens adquiridas tiveram o foco avaliado previamente por Kimura *et al.* (2010) que, a partir de um estudo sistemático, buscaram selecionar a melhor métrica para aplicações de autofocus em imagens de microscopia de campo claro.

Para a classificação dos bacilos, as imagens foram separadas em dois grupos, baseado no conteúdo de fundo: a) imagens com alta densidade de conteúdo de fundo (CFA); b) imagens com baixa densidade de conteúdo de fundo (CFB). Como mostrado na seção resultados, imagens do grupo CFB apresentam menos ruídos do que imagens do grupo CFA. A Figura 1 (a) mostra uma imagem do grupo CFA e a Figura 1 (b) mostra uma imagem do grupo CFB. Como mostrado, no fundo das imagens CFA, há uma predominância da cor azul, enquanto que no fundo das imagens CFB há uma predominância da cor branca.

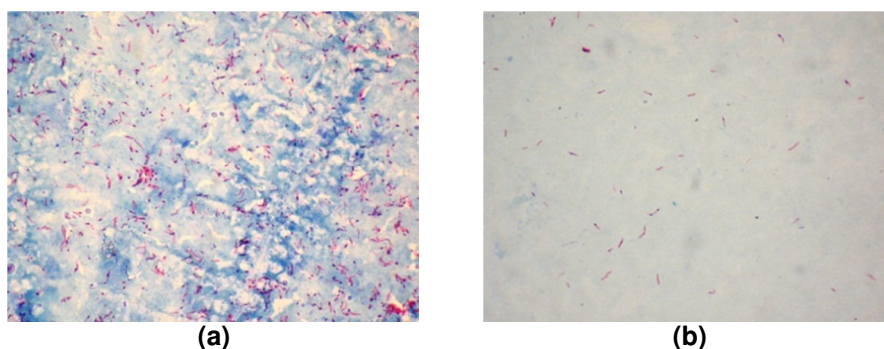


Figura 1. (a) Imagem com alta densidade de conteúdo de fundo. (b) Imagem com baixa densidade de conteúdo de fundo.

Para classificar as imagens nesses dois grupos, a componente H, do espaço de cor HSI, foi utilizada, como mostrado na Figura 2. Para cada imagem foi calculado o percentual de *pixel* na faixa que representa o azul do fundo (0,50 – 0,70).

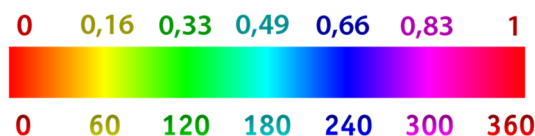


Figura 2. Escala de tonalidade do espaço de cor HSI

Para cada imagem foi obtida a porcentagem de *pixels* com o matiz na faixa da cor azul. A Figura 3 mostra esta porcentagem, para imagens de ambos os grupos, representada com barras. As barras foram organizadas de forma que as 60 primeiras imagens têm as barras correspondentes a valores de porcentagem baixos e as últimas 60 imagens têm barras correspondentes a valores de porcentagem altos. Um limiar experimental de 13,56 foi estabelecido para separar imagens como pertencentes ao grupo CFB ou ao grupo CFA. Esse valor de limiar é mostrado como uma linha na Figura 3. Quando o valor da barra é menor que o limiar, a imagem é considerada como pertencente ao grupo CFB. Quando o valor da barra é maior que o limiar, a imagem é considerada como pertencente ao grupo CFA.

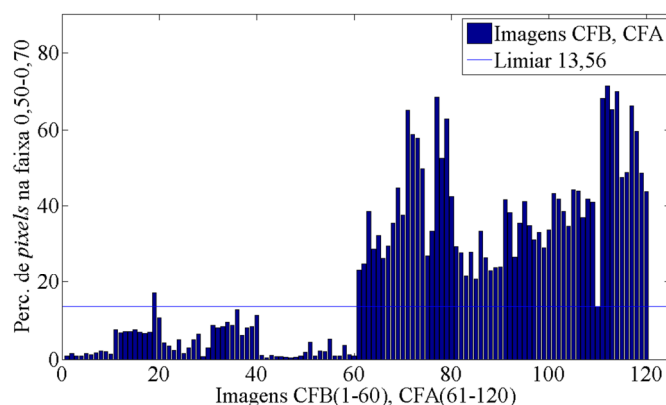


Figura 3. Porcentagens em barra para todas as imagens dos grupos CFB e CFA.

2.2. Métodos

O método de segmentação do bacilo é mostrado no diagrama em blocos na Figura 4. As principais etapas do método são: seleção de características, classificação de *pixel* e pós-processamento. As três etapas são descritas a seguir.



Figura 4. Etapas do método de segmentação do bacilo

2.2.1. Seleção de Características

As características utilizadas para a classificação de *pixel* foram as componentes e subtração das componentes dos espaços de cores: RGB, HSI, YCbCr e Lab. O Conjunto C de 30 características foi utilizado: $C = \{R, G, B, R-B, R-G, G-B, \sim R, \sim G, \sim B, H, S, I, H-S, H-I, S-I, R-I, G-I, B-I, Y, Cb, Cr, Y-Cb, Y-Cr, Cb-Cr, L, a, b, L-a, L-b, a-b\}$.

A técnica usada para selecionar as melhores características foi a de seleção escalar de características, descrita em Theodoridis e Koutroumbas (2006). Essa é uma técnica “ad-hoc” que incorpora informação de correlação combinada com critérios adaptados para características escalares. A escolha da técnica de seleção escalar de características em detrimento da técnica vetorial deveu-se a complexidade computacional dessa última. O processo é dividido em três partes, conforme descrito a seguir:

- A. Utilizar uma medida de separação de classes para selecionar a primeira característica. Nesse trabalho usamos a medida FDR (FDR - Fisher’s Discriminant Ratio), definida como:

$$FDR = \frac{(\mu_1 - \mu_2)^2}{\sigma_1^2 + \sigma_2^2} \quad (1)$$

Em que: μ_1 e σ_1^2 representam a média e o desvio padrão, respectivamente, da característica na classe ω_1 ; μ_2 e σ_2^2 representam respectivamente a média e o desvio padrão da mesma característica na classe ω_2 .

A medida FDR é calculada para cada característica x_k , sendo seu valor $C(k)$, $k=1,2,\dots,m$. A característica com maior valor de $C(k)$ é a primeira característica selecionada. Essa característica é denominada x_{i_1} .

- B. Seja x_{nk} a k -ésima característica do n -ésimo padrão, com $n=1, 2, \dots, N$ e $k=1, 2, \dots, m$. Define-se o coeficiente de correlação cruzada entre duas características i e j como:

$$\rho_{ij} = \frac{\sum_{n=1}^N x_{ni} x_{nj}}{\sqrt{\sum_{n=1}^N x_{ni}^2 \sum_{n=1}^N x_{nj}^2}} \quad (2)$$

Calcular ρ_{ij} entre a primeira característica selecionada x_{i_1} e as outras $m - 1$ características, isto é $\rho_{i_1 j}$, $j \neq i_1$.

Selecionar a segunda característica x_{i_2} para a qual

$$i_2 = \arg \max_j \{ \alpha_1 C(j) - \alpha_2 |\rho_{i_1 j}| \}, \text{ for all } j \neq i_1 \quad (3)$$

Em que: α_1 e α_2 são fatores que regulam a importância relativa de cada um dos termos. Nesse trabalho utilizou-se $\alpha_1 = 0,5$ e $\alpha_2 = 0,5$.

- C. Selecionar as outras características x_{i_k} , $k=3, \dots, m$ de tal forma que:

$$i_k = \arg \max_j \left\{ \alpha_1 C(j) - \frac{\alpha_2}{k-1} \sum_{r=1}^{k-1} |\rho_{i_r j}| \right\} \quad (4)$$

2.3. Classificação

Na etapa de classificação os *pixels* de uma imagem são classificados como pertencentes ao bacilo ou ao fundo. Dois métodos de classificação foram empregados: SVM e redes neurais artificiais. O treinamento dos classificadores foi feito utilizando 1200 *pixels* pertencentes a bacilos e 1200 *pixels* pertencentes ao fundo. O conjunto de teste foi composto, também, por 1200 *pixels* de bacilos e 1200 *pixels* de fundo. Esses *pixels* foram extraídos de todas as 120 imagens.

2.3.1. Máquina de Vetores de Suporte

Máquinas de vetores de suporte são máquinas de aprendizado binárias usadas para separar dados pertencentes a duas classes, a partir de um hiperplano que maximiza a margem de separação [Haykin 1999].

De acordo com Theodoridis e Koutroumbas (2006), para classes separáveis, os parâmetros do hiperplano que maximizam a margem são calculados através da determinação do vetor de pesos \mathbf{w} e da polarização \mathbf{w}_0 , tal que a expressão (5) seja minimizada satisfazendo as condições de *Karush-Kuhn-Tucker* (KKT).

$$J(\mathbf{w}) \equiv \frac{1}{2} \|\mathbf{w}\|^2 \quad (5)$$

Para classes não separáveis, os mesmos parâmetros podem ser calculados minimizando a expressão (6), onde novas variáveis ξ_i , conhecidas como variáveis de folga são introduzidas. O objetivo agora é tornar a margem tão grande quanto possível,

mas ao mesmo tempo manter o número de pontos com $\xi > 0$ tão pequeno quanto possível [Theodoridis e Koutroumbas 2006].

$$J(\mathbf{w}, w_0, \xi) = \frac{1}{2} \|\mathbf{w}\|^2 + C \sum_{i=1}^N \xi_i \quad (6)$$

O parâmetro C na expressão (7) é uma constante positiva que estabelece um compromisso entre a variável de folga e a margem [Bishop 2006].

SVMs utilizam *kernels* para mapear o vetor de características para um espaço de dimensão maior e dessa forma permitir a classificação em espaços não separáveis linearmente. A Tabela 1 ilustra os *kernels* utilizados nesse artigo [Theodoridis e Koutroumbas 2006], [Bishop 2006], [Abe 2010] e [Taylor 2004].

Os valores do parâmetro C utilizados foram: 0,2, 0,4, 0,8, 1,6, 3,2, 6,4, 12,8, 25,6, 51,2 e 102,4. A fim de obter o melhor classificador SVM, 250 simulações foram realizadas, combinando cada um dos *kernels* mostrados na Tabela 1 com os valores escolhidos para o parâmetro C .

2.3.2. Redes Neurais Artificiais

A rede neural utilizou uma arquitetura $n-m-1$. Para ajustar a melhor arquitetura, os valores de n e m assumiram valores do seguinte conjunto: {3,6,9,12,15,18}. Foi realizado um total de 180 simulações combinando diferentes valores de n e m . O algoritmo de treinamento usado foi o *backpropagation* associado ao método de otimização *Levenberg-Marquardt* [Cichoki e Unbehauen 1993]. A função de ativação utilizada nos neurônios de todas as camadas foi a tangente hiperbólica. O critério de convergência utilizado foi um erro quadrático de 10^{-4} .

2.4. Pós-processamento

Após todos os *pixels* serem classificados como pertencentes ao bacilo ou ao fundo, um filtro morfológico foi aplicado para remover ruídos maiores que 150 *pixels* e menores que 20 *pixels*. Experimentalmente, para as dimensões das imagens utilizadas, observou-se que objetos maiores do que 150 *pixels* e menores do que 20 *pixels*, não correspondem a bacilos.

Tabela 1. *Kernels* utilizados

Kernel	Função/Método
Linear	$K(\mathbf{x}, \mathbf{z}) = \mathbf{x}^T \mathbf{z}$
Polynomial	$K(\mathbf{x}, \mathbf{z}) = (\gamma \mathbf{x}^T \mathbf{z} + r)^d, \gamma > 0$
Radial	$\exp(-\gamma \ \mathbf{x} - \mathbf{z}\ ^2)^d, \gamma > 0$
Quadratic	$\hat{K}(\mathbf{x}, \mathbf{z}) = K(\mathbf{x}, \mathbf{z})^2$
<i>perceptron</i> multicamada	$\mathbf{w}^T \mathbf{x} + w_0$

3. Resultados

3.1. Conjunto de Características Seleccionadas

A seleção das melhores características foi feita utilizando o conjunto de características F , descrito previamente, como ponto de partida. De cada uma das 120 imagens, 20 *pixels* pertencentes a bacilos e 20 *pixels* pertencentes ao fundo foram extraídos.

Utilizando uma técnica de seleção escalar de características, conjuntos com 4, 5, 6, 7 e 8 características foram selecionados. A Tabela 2 mostra as características selecionadas para cada um desses conjuntos.

Tabela 2. Conjuntos de características selecionadas

Número de características	Conjuntos de características
4	{G-I, L-a, Y-Cr, a}
5	{G-I, L-a, Y-Cr, a, R-G}
6	{G-I, L-a, Y-Cr, a, R-G, H-I}
7	{G-I, L-a, Y-Cr, a, R-G, H-I, a-b}
8	{G-I, L-a, Y-Cr, a, R-G, H-I, a-b, H}

3.2. Classificação

Para cada simulação (com uma combinação diferente do *kernel* e do parâmetro *C*) com o classificador SVM, a acurácia foi calculada, e para cada simulação (com uma arquitetura diferente) com o classificador de rede neural, o mesmo parâmetro também foi calculado.

A melhor acurácia da rede neural foi combinada com uma arquitetura 18-3-1 e com o conjunto de cinco características selecionadas. A melhor acurácia de SVM foi obtida com o *kernel* quadrático, $C=1,6$ e com o conjunto de sete características selecionadas. A Tabela 3 mostra os valores de acurácia, sensibilidade e especificidade dos melhores classificadores. A Tabela 4 mostra os resultados dos melhores classificadores quando aplicados à classificação dos bacilos em todas as 120 imagens utilizadas nesse estudo (imagens do grupo CFB e imagens do grupo CFA). A taxa de acerto é definida como a razão entre a quantidade de bacilos classificados corretamente e o número total de objetos classificados como bacilo. A taxa de erro é definida como a razão entre a quantidade de ruídos classificados como bacilo e número total de objetos classificados como bacilo.

Tabela 3. Desempenho dos melhores classificadores

Classificador	Amostra	Acurácia (%)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
SVM	Treino	93,08	93,58	92,58
	Teste	93,25	93,75	92,75
Rede Neural	Treino	90,87	92,75	89,00
	Teste	91,45	93,41	89,50

A Tabela 3 mostra que, na classificação de *pixel*, os melhores valores da sensibilidade, especificidade e acurácia foram obtidos para o classificador SVM. Por outro lado, a Tabela 4 mostra que, na classificação de bacilo, a melhor taxa de acerto para o grupo CFA e a melhor taxa de acerto global foi obtida com a rede neural, enquanto que a melhor taxa de acerto para o grupo CFB foi obtida com o classificador SVM. As diferenças de porcentagens entre os dois classificadores, todavia, são pequenas. É notável que a taxa de erro no grupo CFB é muito menor do que no grupo CFA.

Tabela 4. Desempenho dos classificadores na segmentação do bacilo

Classificador	Grupo	Sensibilidade (%)	Taxa de acerto (%)	Taxa de erro (%)
SVM	CFA	95,77	49,42	50,58
	CFB	93,92	96,13	3,87
	Todas	94,95	62,74	37,26
Rede Neural	CFA	94,16	50,63	49,37
	CFB	90,32	94,78	5,22
	Todas	92,47	63,36	36,64

As Figuras 5 e 6 mostram imagens originais de microscopia de campo claro pertencentes aos grupos CFB e CFA, respectivamente, com as correspondentes imagens de bacilos segmentados. Como mostrado, a imagem CFB apresenta uma pequena quantidade de ruídos, enquanto que a imagem CFA possui uma grande quantidade de ruídos. As imagens originais são apresentadas com os bacilos marcados. Um círculo envolve bacilos verdadeiros. Um retângulo envolve um aglomerado de bacilos. Um polígono envolve bacilos duvidosos (o foco ou a geometria não permite identificar se o objeto é, de fato, um bacilo). Quando determinados a acurácia, sensibilidade, especificidade, taxa de acerto e taxa de erro, os aglomerados de bacilos ou bacilos duvidosos não foram levados em consideração. O primeiro foi excluído porque não é possível saber o número exato de bacilos quando estão em aglomerados. O último foi excluído porque não é possível dizer com certeza que o objeto é realmente um bacilo.

4. Conclusão

Uma nova técnica para identificação de bacilos foi apresentada. A principal diferença entre este trabalho e outros já apresentados é que as características utilizadas como entradas nos classificadores foram selecionadas de quatro diferentes espaços de cores. Um total de 30 características foi utilizado. Inclusas nessas características estão subtrações de componentes de diferentes espaços de cores. Dois tipos de classificadores foram utilizados: SVM e rede neural. Os resultados mostraram que o melhor classificador SVM foi obtido com um conjunto de sete características, enquanto que o melhor classificador neural foi obtido com um conjunto de cinco características. Outro ponto chave foi a separação de imagens de microscopia em dois grupos: o primeiro apresentando um fundo com alta densidade de conteúdo e o segundo apresentando um fundo com baixa densidade de conteúdo. A taxa de erro em imagens com um fundo de baixa densidade é significativamente menor que em imagens com uma alta densidade de conteúdo de fundo. A maior taxa de erro em imagens com alta densidade de conteúdo de fundo foi devido ao fato de que, nesse tipo de imagem, existem muitos ruídos com a mesma tonalidade do bacilo. O método descrito neste trabalho é adequado para segmentar bacilos em imagens com baixa densidade de conteúdo de fundo. Novos esforços estão, agora, concentrados em técnicas de filtro para remover ruídos presentes em imagens com alta densidade de conteúdo de fundo. Um próximo trabalho mostrará resultados promissores de filtros que combinam informações de cor e de geometria.

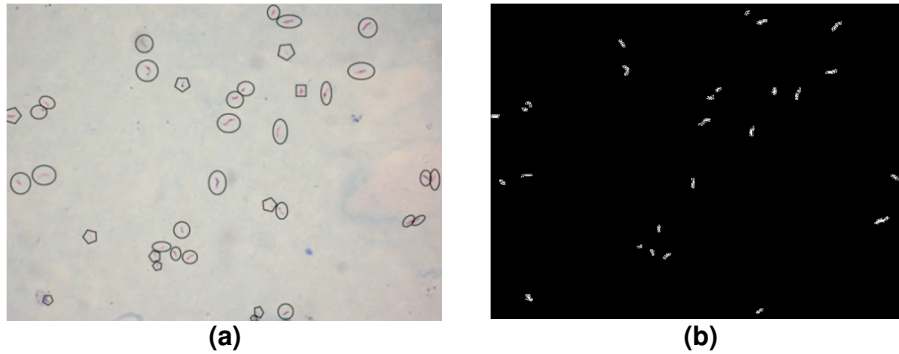


Figura 5. Exemplo de imagem CFB com a correspondente imagem de bacilo segmentado. (a) Imagem original com o bacilo marcado. (b) Resultado da aplicação da melhor rede neural na segmentação do bacilo.

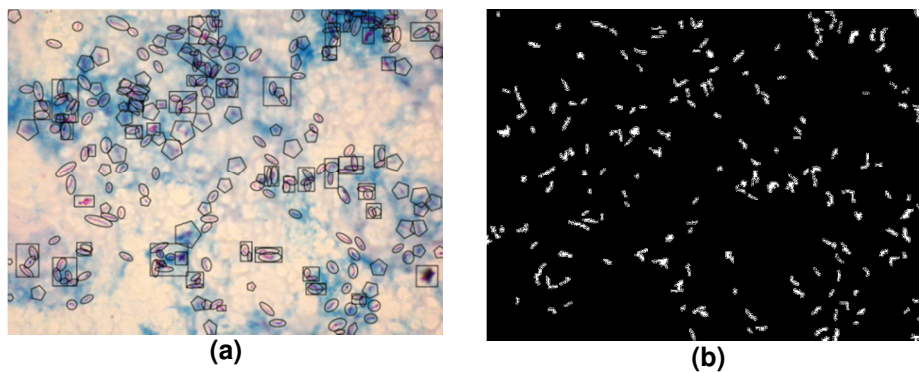


Figura 6. Exemplo de imagem CFA com a correspondente imagem de bacilo segmentado. (a) Imagem original com o bacilo marcado. (b) Resultado da aplicação da melhor rede neural na segmentação do bacilo.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer a CAPES (PROCAD-Novas Fronteiras) e CNPq (Processo 470972/2011-4), pelo apoio financeiro.

Referências

- Abe, S. (2010) Support Vector Machines for Pattern Classification: Advances in Pattern Recognition, Springer, London.
- Bishop, C. M. (2006) Pattern Recognition and Machine Learning, Springer Science Business Media, Singapore.
- Cichoki, A., Unbehauen, R. (1993), Neural Networks for Optimization and Signal Processing, John Wiley & Sons ltd., New York.
- Costa, M. G. F., Costa Filho, C. F. F., Sena, J. F., Salem, J., and de Lima, M. O. (2008) “Automatic Identification of Mycobacterium Tuberculosis with Conventional Light Microscopy”, In: 30th Annual International Conference of the IEEE EMBS, pp. 382-385, Vancouver.
- Haykin, S. (1999) Neural Networks and Learning Machines, Pearson Prentice Hall, New Jersey.

- Khutlang, R., Krishnan, S., Dendere, R., Whitelaw, A., Veropoulos, K., Learmonth, G., Douglas, T. S. (2010) "Classification of Mycobacterium Tuberculosis in Images of ZN-Stained Sputum Smears" In: IEEE transactions on information technology in biomedicine, v. 14, p. 949-957.
- Kimura, A., Costa, M.G.F., Filho, C.F.F.C., Fujimoto, L.B.M., Salem, J. (2010) "Evaluation of Autofocus Functions of Conventional Sputum Smear Microscopy for Tuberculosis", In: Annual International Conference of the IEEE EMBS, p. 3041-3044, Buenos Aires.
- Luna, J. A. C. (2004) "A Tuberculosis Guide for Specialist Physicians", International Union against Tuberculosis and Lung Disease.
- Makkapati, V., Agrawal, R., Acharya, R. (2009) "Segmentation and Classification of Tuberculosis Bacilli from ZN-stained Sputum Smear Images", In: 5th Annual IEEE Conference on Automation Science and Engineering CASE, p. 217-220.
- Raof, R.A.A., Salleh, Z., Sahidan, S.I., Mashor, M.Y., Noor, S.S. Md., Mohamad Idris F., Hasan, H. (2008) "Color Thresholding Method for Image Segmentation Algorithm of Ziehl-Neelsen Sputum Slide Images", In: 5th International Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control CCE, p. 212-217, Mexico City.
- Sadaphal, P., Rao, J., Comstock, G.W., Beg, M.F. (2008) "Image Processing Techniques for Identifying Mycobacterium Tuberculosis in Ziehl-Nelsen Stains", Int. J. of Tuberculosis and Lung Disease, v. 12, p. 579 – 582.
- Sotaquirá, M., Rueda, L., Narvaez, R. (2009) "Detection and Quantification of Bacilli and Clusters Present in Sputum Smear Samples: A Novel Algorithm for Pulmonary Tuberculosis Diagnosis", In: International Conference on Digital Image Processing, p. 117-121, Bangkok.
- Taylor, J. S., Cristianini, N. (2004) Kernel Methods for Pattern Analysis, Cambridge University Press, New York.
- Theodoridis, S., Koutroumbas, K. (2006) Pattern Recognition, Elsevier Academic Press, San Diego.
- Who (2012) "Tuberculosis facts 2011/2012", <http://www.who.int/tb/publications/factsheets/en/index.html>, January.