

Validação e aprimoramento de ferramenta de análise de imagens para avaliar cultivos de *Escherichia coli* recombinante

João Victor de Lima Andrade^{*1}, Gabriel Gonçalves Silva², Jéssica Hilário Bonomo¹, Teresa Cristina Zangirolami³

1. Estudante de IC do Departamento de Engenharia Química (DEQ), UFSCar – São Carlos/SP; *joaoandrade_1000@hotmail.com
2. Mestrando em Engenharia Química (PPG-EQ), UFSCar – São Carlos/SP
3. Professora Associada do Departamento de Engenharia Química (DEQ), UFSCar – São Carlos/SP

Palavras Chave: *Análise de imagens, Morfologia, Escherichia coli*

Introdução

A introdução da informática vem aprimorando processos industriais. Atualmente, as inovações tecnológicas estão acontecendo cada vez mais rápido, sendo necessária a introdução da mecanização e automação em diversos processos. A ciência também acompanhou as mudanças ocorridas pelo mundo, com um número crescente de teses e artigos publicados que se utilizam da computação. Simulação de processos, acompanhamento de dados online, desenvolvimento e aplicação de teorias, captação de sinais e análise gráfica são algumas áreas nas quais o uso de computadores e softwares são usados.

Processos biológicos automatizados, softwares de acompanhamento de cultivos, análise e processamento de imagens, são alguns exemplos em que a biotecnologia utiliza metodologias computadorizadas. Bjørnsen (1986) determinou biovolume e biomassa de bacterioplâncton através de uma rotina de análise de imagens, as quais consistiam em dimensionar os microorganismos por meio de dados de comprimento, diâmetro, área e perímetro convexo. No entanto, até o momento, não é mencionada a utilização de análise de imagens digitais para avaliar a diferenciação celular em cultivos de *E. coli* recombinante.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi aprimorar e validar uma ferramenta de análise e processamento de imagens para avaliar características morfológicas em cultivos de *Escherichia coli* recombinante.

Resultados e Discussão

Durante a realização dos cultivos em biorreatores, lâminas foram feitas a partir da retirada de alíquotas do meio de cultivo, as quais são colocadas no microscópio para a captação de imagens. Posteriormente, as imagens são binarizadas pelo software ImageJ®, a qual transforma imagens coloridas em imagens em preto e branco, determinado, manualmente, pelo ajuste do histograma em tons de cinza (0-255), denominado *Threshold*. Em seguida, o processamento das imagens (conversão das imagens em informação) é feito pelo software MATLAB®, o qual é usado para rodar as rotinas de programação usadas para a determinação dos parâmetros: comprimento, diâmetro e volume. A Figura 1 resume a metodologia descrita acima.

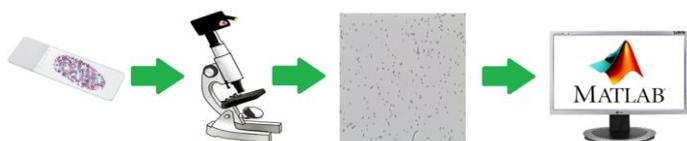


Figura 1. Metodologia de processamento e análise de imagens. Fonte: SILVA, 2014.

A partir disso, foi feita uma análise estatística dos dados obtidos a partir das imagens. Verificou-se se as amostras em análise possuem distribuição normal a partir do teste de Kolmogorov-Smirnov. Como previsto, 100% das amostras das imagens possuem distribuição não-normal. A Figura 2 mostra uma mesma imagem, com dife-

rente binarização, e revela a sensibilidade do *Threshold* do software ImageJ®.



Figura 2. Imagem original (centro), "imagem -10" de threshold (esquerda) e "imagem +10" de threshold (direita). Fonte: acervo pessoal.

Para fazer a análise de sensibilidade, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis (não-paramétrico) para testar se as amostras possuem uma mesma distribuição. Foram analisadas 7 imagens binarizadas com diferentes níveis de cinza para cada imagem original, em dois cultivos diferentes. Os dados obtidos foram resumidos na Tabela 1.

Tabela 1. Imagens com diferentes níveis de cinza significativamente diferentes.

Fatores Comparados	Cultivo 1	Cultivo 2	Fatores Comparados	Cultivo 1	Cultivo 2
1 - 2	71,4%	33,3%	3 - 4	28,6%	0,0%
1 - 3	100,0%	75,0%	3 - 5	100,0%	41,7%
1 - 4	100,0%	83,3%	3 - 6	100,0%	100,0%
1 - 5	100,0%	83,3%	3 - 7	100,0%	100,0%
1 - 6	100,0%	100,0%	4 - 5	42,9%	0,0%
1 - 7	100,0%	100,0%	4 - 6	100,0%	83,3%
2 - 3	85,7%	0,0%	4 - 7	100,0%	100,0%
2 - 4	100,0%	58,3%	5 - 6	100,0%	0,0%
2 - 5	100,0%	83,3%	5 - 7	85,7%	100,0%
2 - 6	100,0%	100,0%	6 - 7	85,7%	100,0%
2 - 7	100,0%	100,0%			

Conclusões

Imagens "+10", "-10", "+5" e "-5" são significativamente diferentes (mais de 70% dos casos), enquanto "+2" e "-2" não são significativamente diferentes das "0" (mais de 80% dos casos).

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) concedida ao primeiro autor do trabalho (Proc. no. 14/11557-9) e ao grupo de pesquisa do Laboratório de Biosseparações.

BJØRNSSEN, P. K. Automatic Determination of Bacterioplankton Biomass by Image Analysis. *Applied And Environmental Microbiology*. v.51 no.6. p.1199-1204. 1986.

SILVA, G. G. ; BONOMO, J. H. ; JESUS, M. M. ; BORGES, C. B. ; CAMPANI, GILSON ; ANDRADE, J. V. L. ; GONCALVES, V. M. ; BADINO, A. C. ; SILVA, A. J. ; ZANGIROLAMI, T. C. Mapeamento Reológico e Morfológico de Caldos de Cultivos de *E. coli* Recombinante. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2014, Florianópolis, SC. COBEQ, 2014.