

Fundamentos de processamento de imagens biológicas

Equipe de Dados Biológicos – EDB

Laboratório de Imagens Biológicas – LIB

Laboratório de Bioensaios – LBE



MINISTÉRIO DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA
E INOVAÇÃO



- » Imagens (biológicas)
- » Repositório de imagens: OMERO
 - ↳ Organização e metadados
- » Fundamentos de análise
 - ↳ Fluxo de trabalho
 - ↳ Software e bibliotecas
- » Fiji/ImageJ



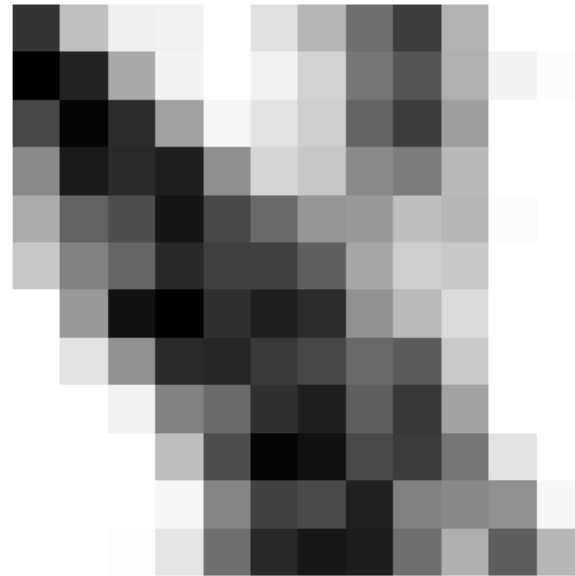
O que são imagens?

- **Imagens digitais** são compostas por pixels (picture elements). Cada pixel é um ponto em uma grade bidimensional, que contém um valor de intensidade luminosa.

(A) Original image



(B) Enlarged view from (A)



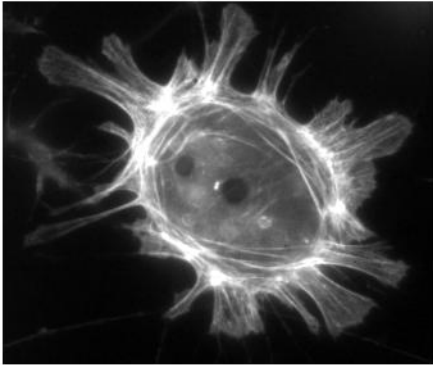
(C) Pixel values from (B)

53	191	239	241	255	225	181	111	61	180	255	255
	35	168	244	255	243	210	119	85	176	244	252
71		45	161	246	227	206	99	60	158	255	255
137	26	42	31	143	214	199	138	125	185	255	255
172	99	78	21	72	106	149	153	190	183	252	255
200	129	102	41	64	65	95	166	206	200	255	255
255	153	17		49	31	44	145	187	219	255	255
255	227	145	42	38	58	71	106	91	202	255	255
255	255	242	129	107	48	30	95	57	162	255	255
255	255	255	189	78		17	74	60	119	228	255
255	255	255	246	133	65	73	32	129	136	144	247
255	255	253	229	112	40	23	29	111	175	93	183

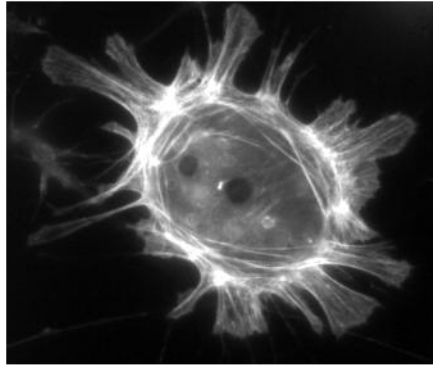
O que são imagens?

- **Imagens digitais** são compostas por pixels (picture elements). Cada pixel é um ponto em uma grade bidimensional, que contém um valor de intensidade luminosa.

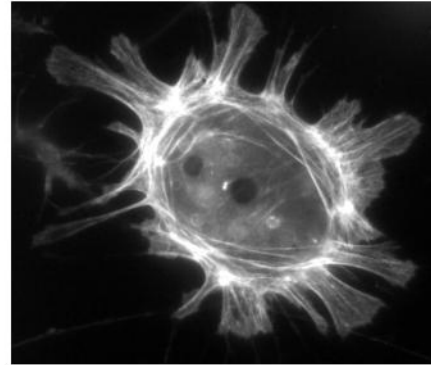
Original 16-bit image



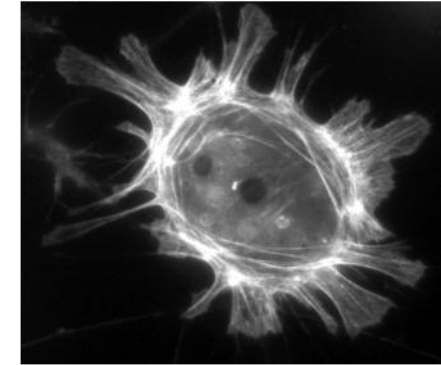
32-bit processed



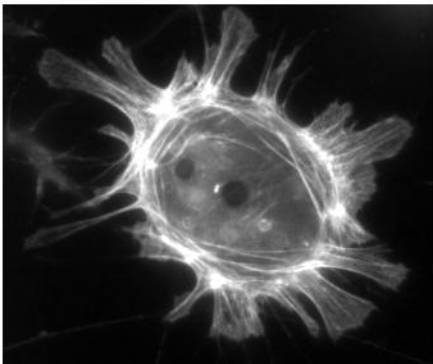
8-bit clipped



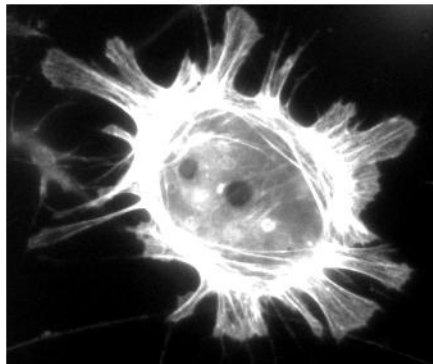
Inverted with inverted LUT



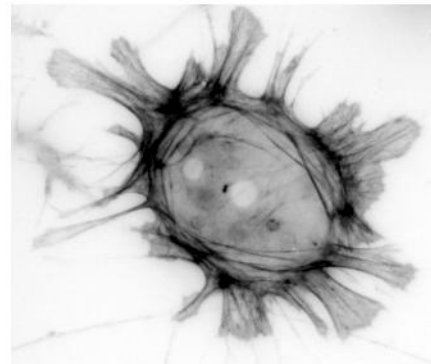
Original 16-bit image



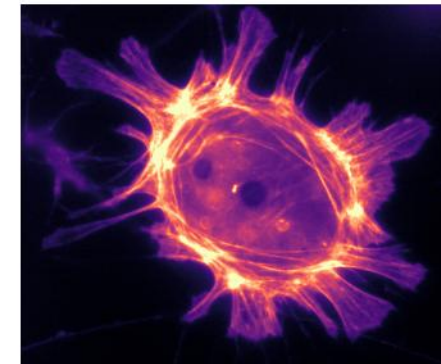
Enhanced contrast LUT



Inverted LUT

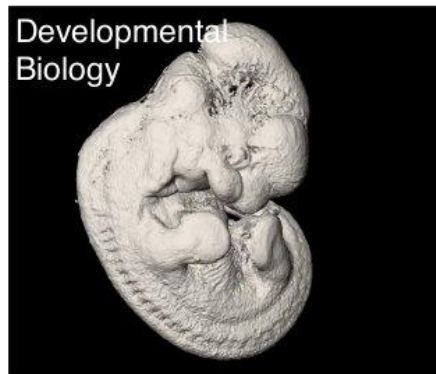


Magma LUT

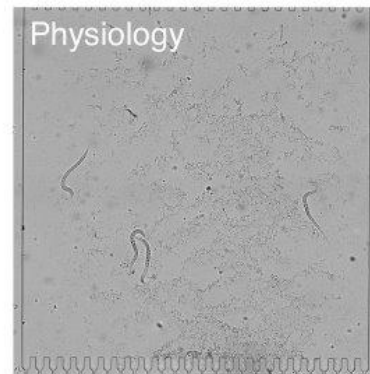


O que são imagens biológicas?

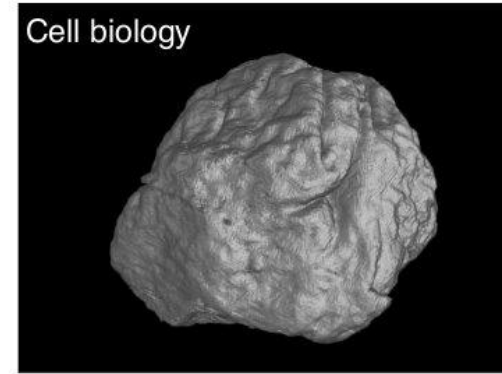
- **Imagens biológicas** (ou bioimagens) são imagens obtidas de organismos vivos ou de amostras biológicas. Podem ser obtidas de diversos tipos de amostras, como células, tecidos, órgãos, organismos inteiros, etc.



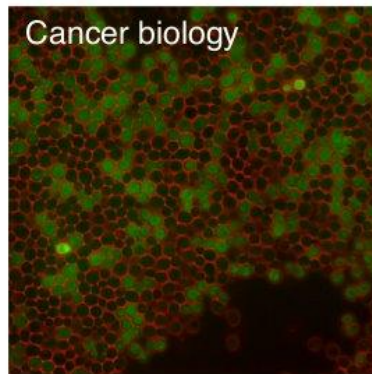
Sharpe Group, EMBL Barcelona, Spain



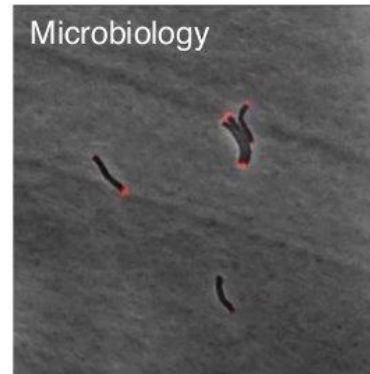
Laboratory of Integrative Systems Physiology, EPFL, Switzerland



Electron Microscopy Science Technology Platform, Crick Institute, UK



Gönczy Lab, EPFL, Switzerland



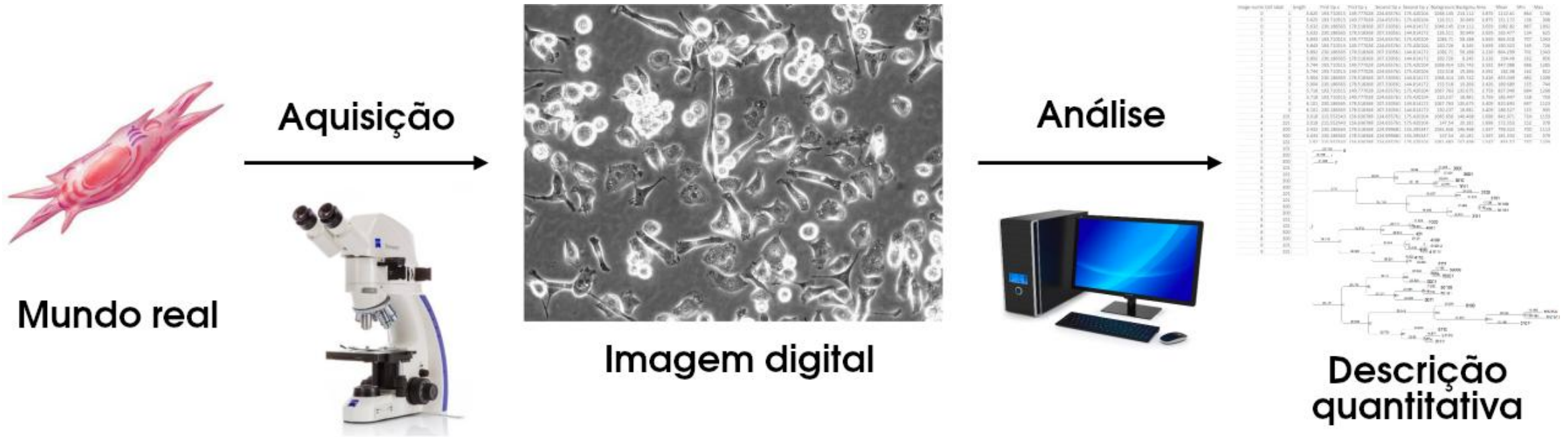
Laboratory of Microbiology and Microtechnology, EPFL, Switzerland



Neuroengineering Laboratory, EPFL, Switzerland

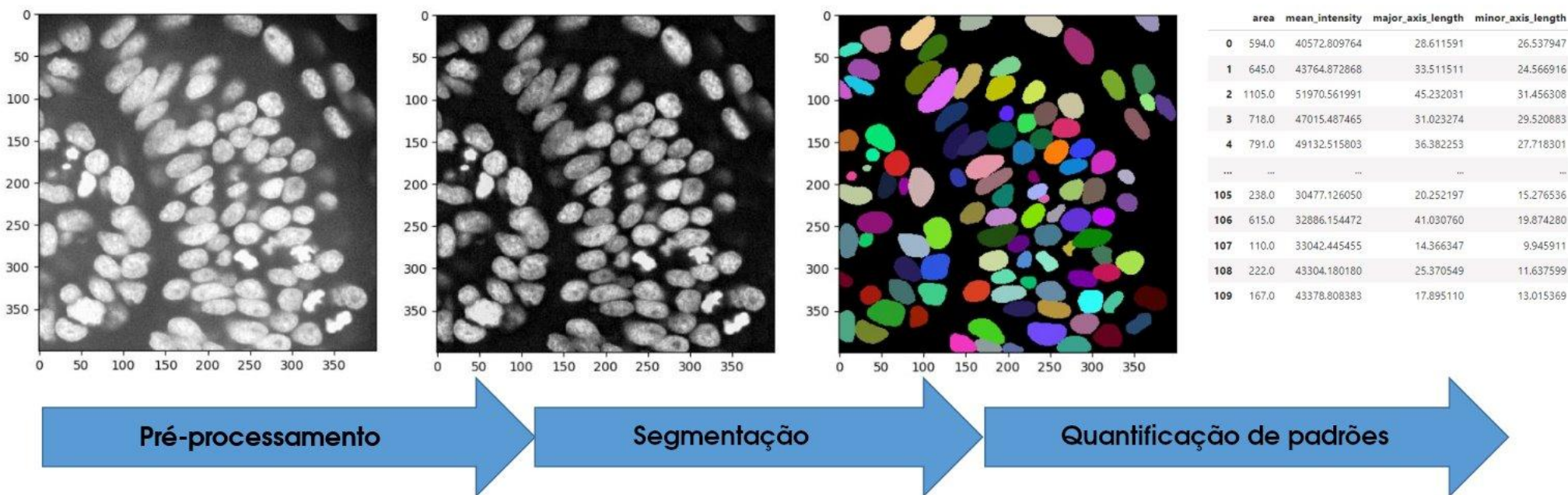
Como as imagens biológicas são obtidas?

- As imagens biológicas são obtidas por **microscopia**. Existem diversos tipos de microscópios, como microscópios de luz, microscópios de fluorescência, microscópios eletrônicos, etc.

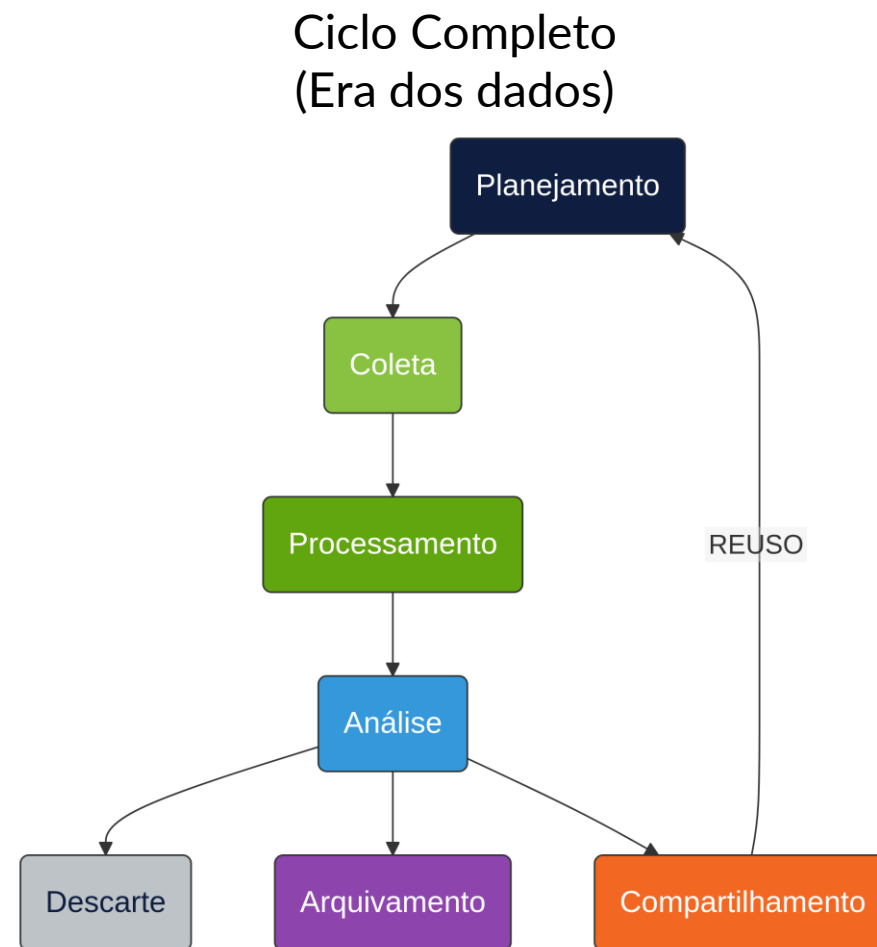


Qual a função da análise computacional de imagens?

- A análise de imagens é a **extração de informações significativas** a partir de imagens. Em bioimagens, a análise de imagens é usada para quantificar e qualificar fenômenos biológicos, como a contagem de células, a medição de intensidades de fluorescência, a segmentação de estruturas celulares, etc.



- Os dados biológicos possuem um ciclo de vida
 - São gerados em diferentes etapas experimentais
 - Precisam ser organizados, processados e interpretados
 - Devem ser armazenados e compartilhados de forma estruturada
 - Podem ser reutilizados em novos estudos
- Repositório de dados
 - Centraliza os dados
 - Preserva metadados
 - Permita organização estruturada
 - Facilite acesso e compartilhamento



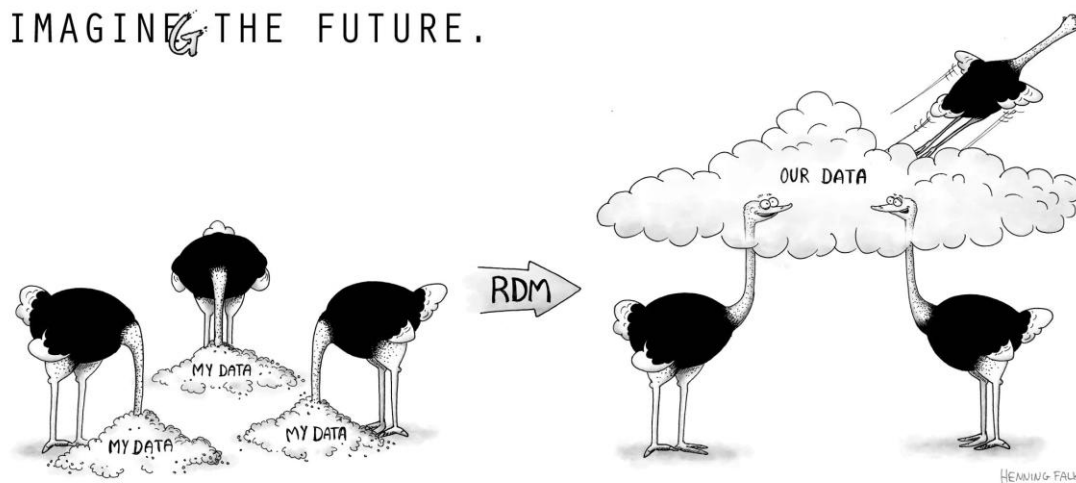
- Os dados biológicos possuem um ciclo de vida

- São gerados em diferentes etapas experimentais
- Precisam ser organizado
- Devem ser armazenados
- Podem ser reutilizados e

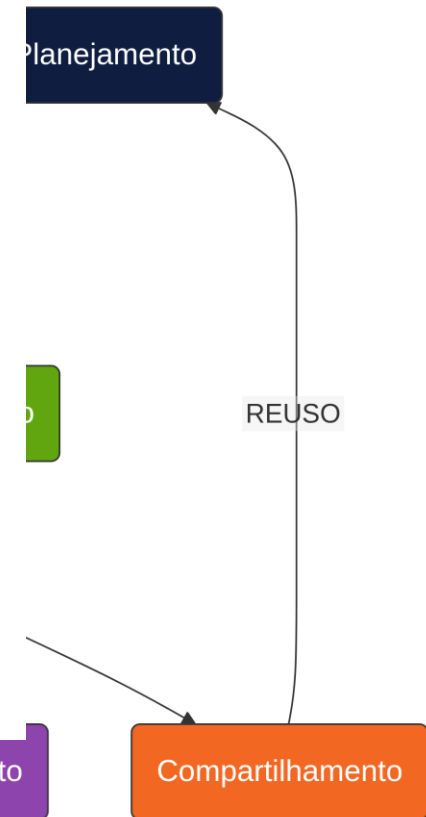
- Repositório de dados

- Centraliza os dados
- Preserva metadados
- Permita organização est
- Facilite acesso e compar

IMAGINE THE FUTURE.

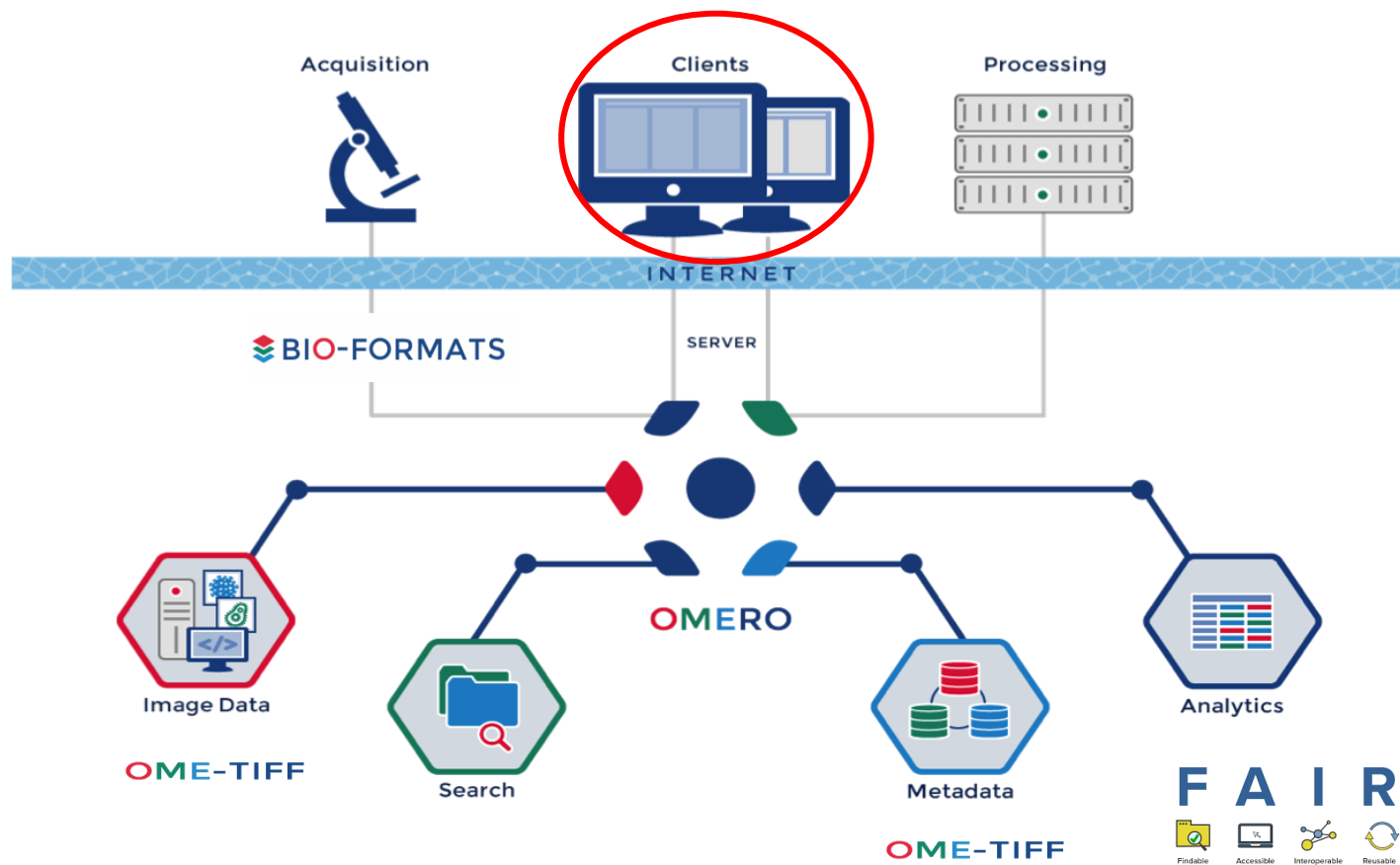


Ciclo Completo (Estrutura de dados)



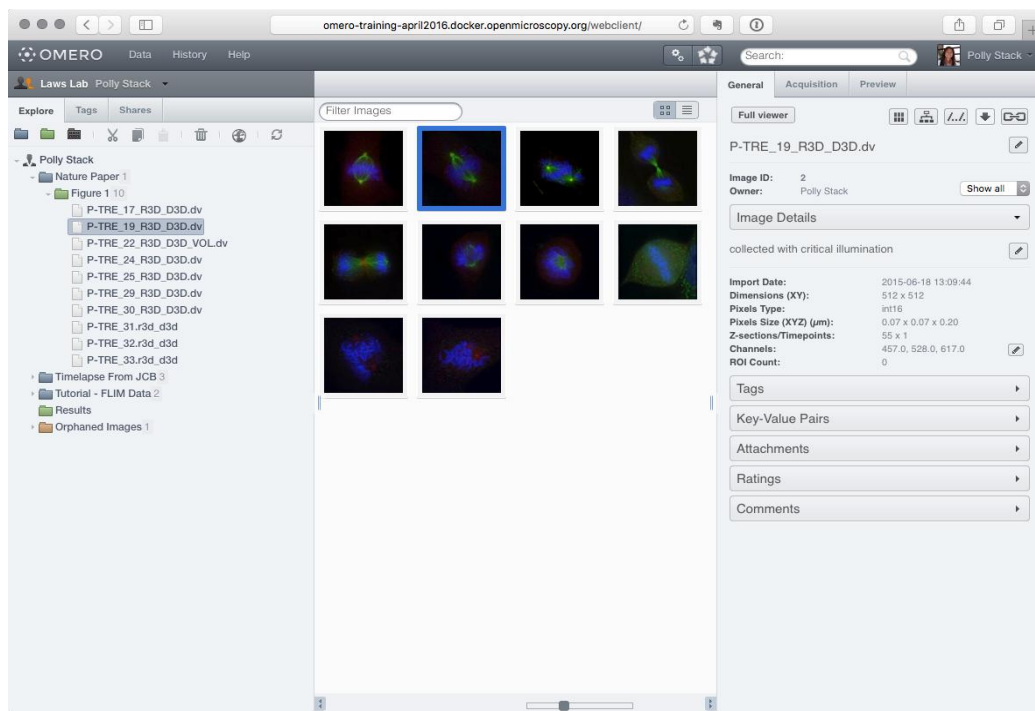
O que é OMERO?

- [OMERO](#) é uma plataforma para gerenciamento de imagens científicas, que permite armazenar, visualizar e compartilhar dados de microscopia.
 - desenvolvido pelo [Open Microscopy Environment \(OME\)](#)

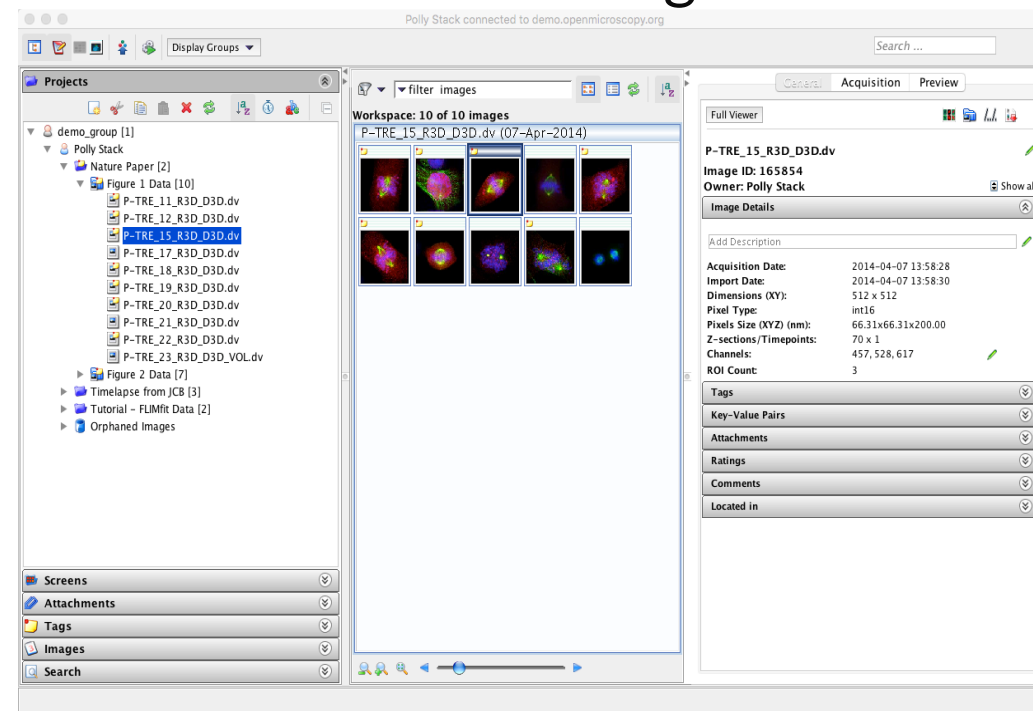


- [OMERO](#) possui três clientes formas de acessar os seus dados e metadados

OMERO.web



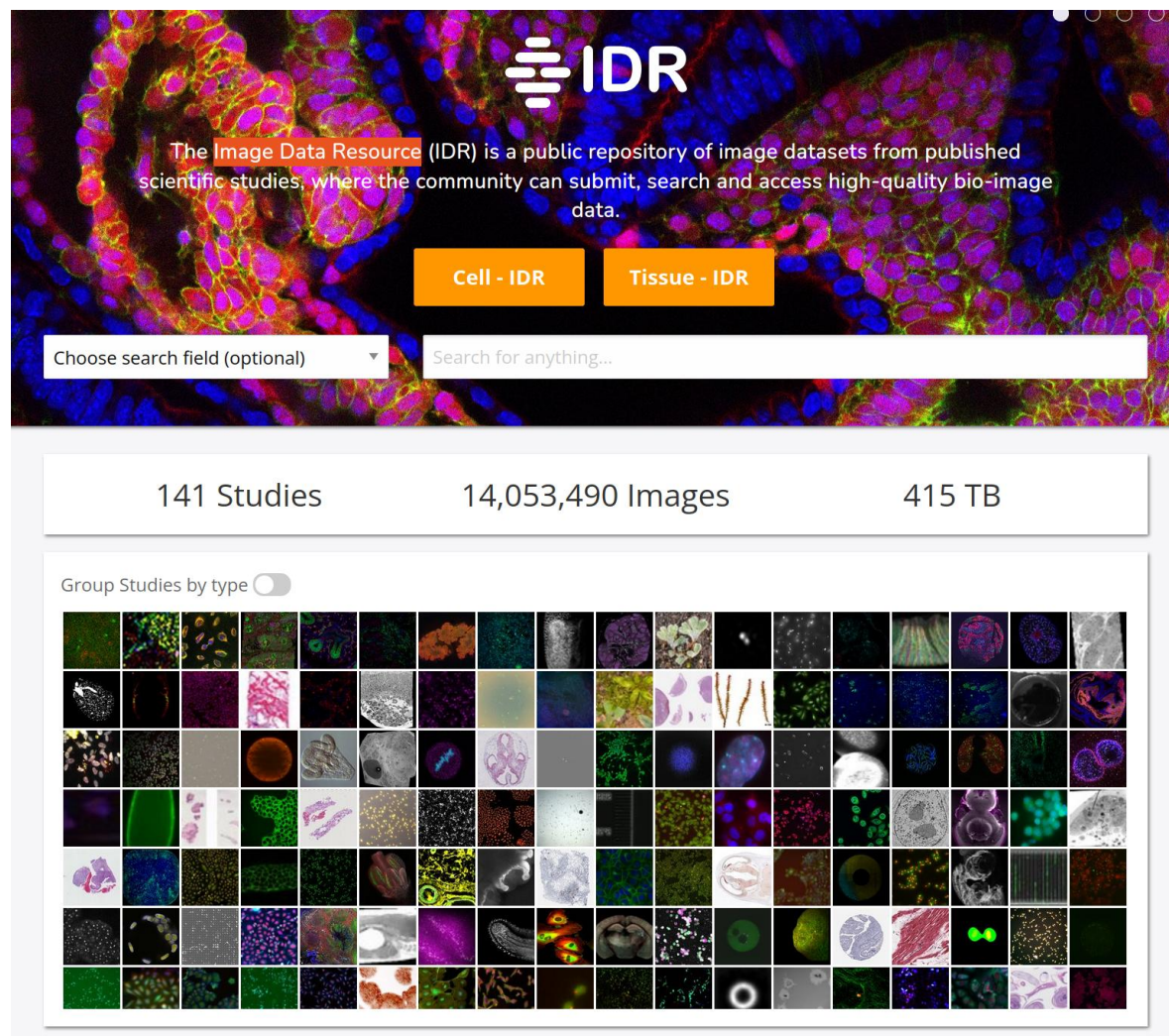
OMERO.insight



> `_OMERO.cli`

```
$ omero -h
```

- [IDR](#) é um repositório público de datasets de imagens de estudos publicados



The Image Data Resource (IDR) is a public repository of image datasets from published scientific studies, where the community can submit, search and access high-quality bio-image data.

Cell - IDR Tissue - IDR

Choose search field (optional) Search for anything...

141 Studies 14,053,490 Images 415 TB

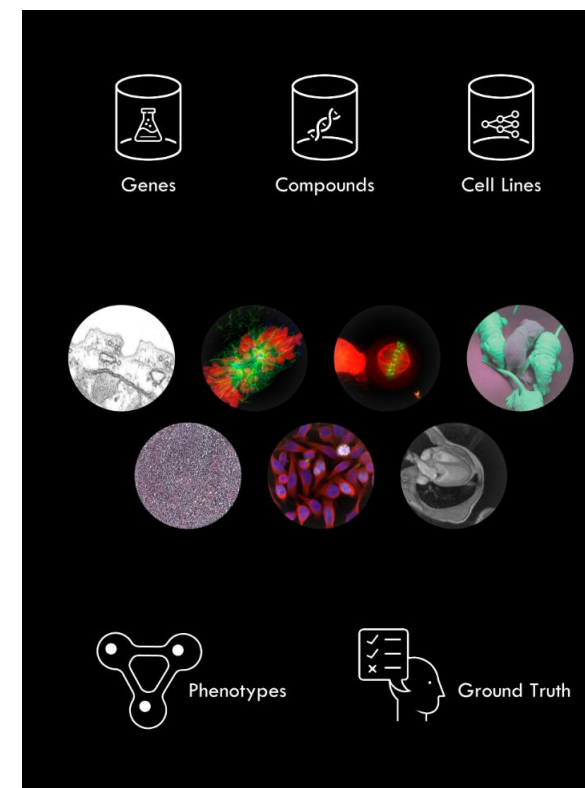
Group Studies by type

A grid of 100 small thumbnail images representing various biological studies, including cell cultures, tissues, and microscopy images.

- Recursos biomoleculares

- Domínios

- Vocabulário controlado



Genes Compounds Cell Lines

Phenotypes Ground Truth

The diagram shows icons for Genes (flask), Compounds (cylinder with plant), and Cell Lines (cylinder with cells). Below are circular images of various biological samples. At the bottom are icons for Phenotypes (network) and Ground Truth (checklist).

EMBL-EBI

- [IDR](#) é um rep

The screenshot displays the OMERO web interface. The main window shows a multi-channel fluorescence microscopy image of cells. The interface includes a search sidebar on the left with a grid of study thumbnails and a search field. The main image viewer has zoom and pan controls. The right panel shows settings for color calibration and interpolation. The title bar shows the file name 'A375_6_ATP13A5_Z-stack_HF_02_2024-03-06_YunHao_23.34.35.zarr'.

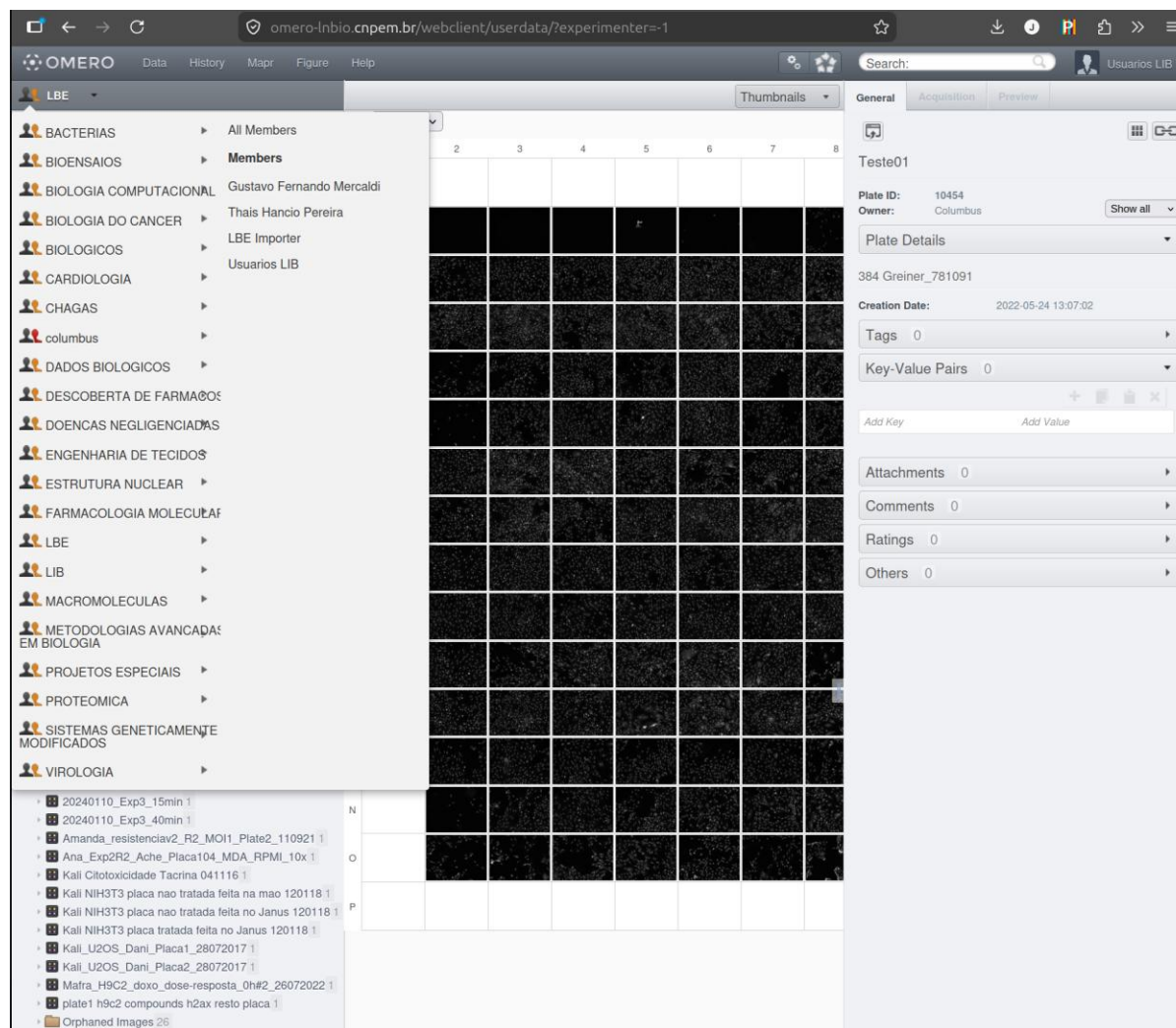
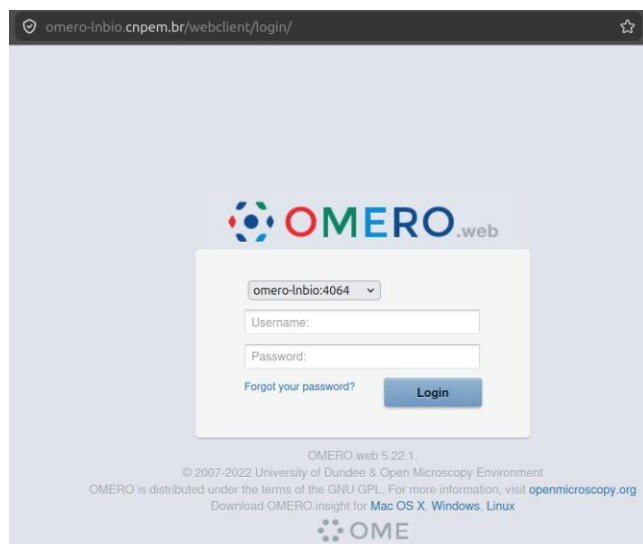
Cell Lines
Ground Truth
Public data

EMBL-EBI

- [IDR](#) é um rep

EMBL-EBI

- Hospedado no Marvin HPC, disponível em <https://omero-lnbio.cnpem.br>



🔗• Acessando pelo navegador: <https://omero-lnbio.cnpem.br> → Login institucional p/ usuários do LNBio

→]• Carregando imagens via OMERO.insight: [link](#)

As imagens adquiridas nas facilities do LIB e do LBE são transferidas diretamente para o OMERO pelas próprias equipes.

✍• Anotando imagens via OMERO.web: [link](#)

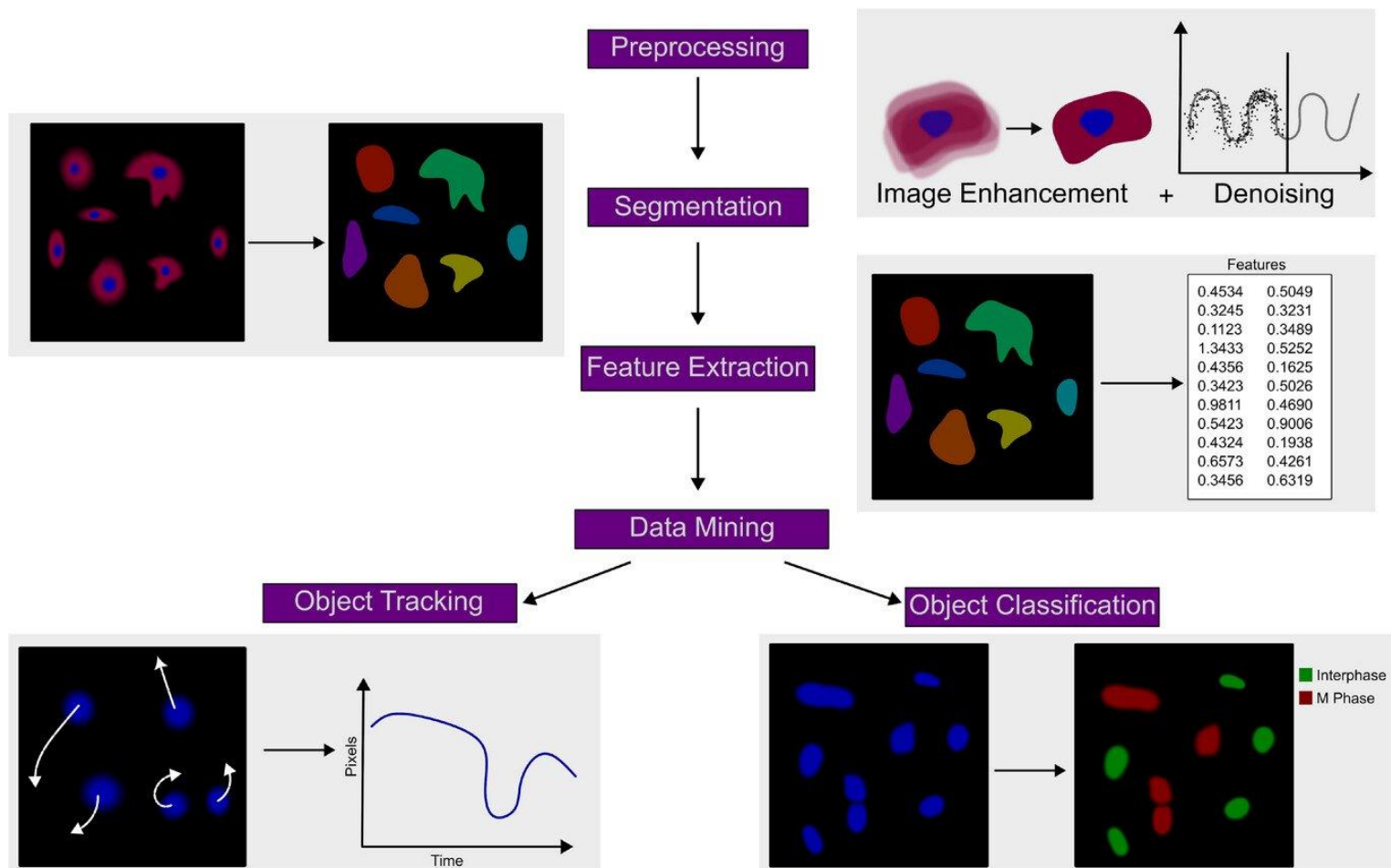
[→• Baixando imagens via OMERO.downloader: [link](#)



- A análise de imagens biológicas deve ser planejada para ser:
 - Quantitativa
Modelar seu fenômeno de forma a descrever propriedades observadas na amostra
 - Objetiva
Medidas independem do analisador
 - Confiável
As medidas descrevem o que deveria
 - Reprodutível
O experimento pode ser refeito, com as mesmas condições experimentais, obtendo resultados consistentes
 - Replicável
Outros experimentalistas realizam a mesma análise, possivelmente com outros dados, e obtêm resultados consistentes

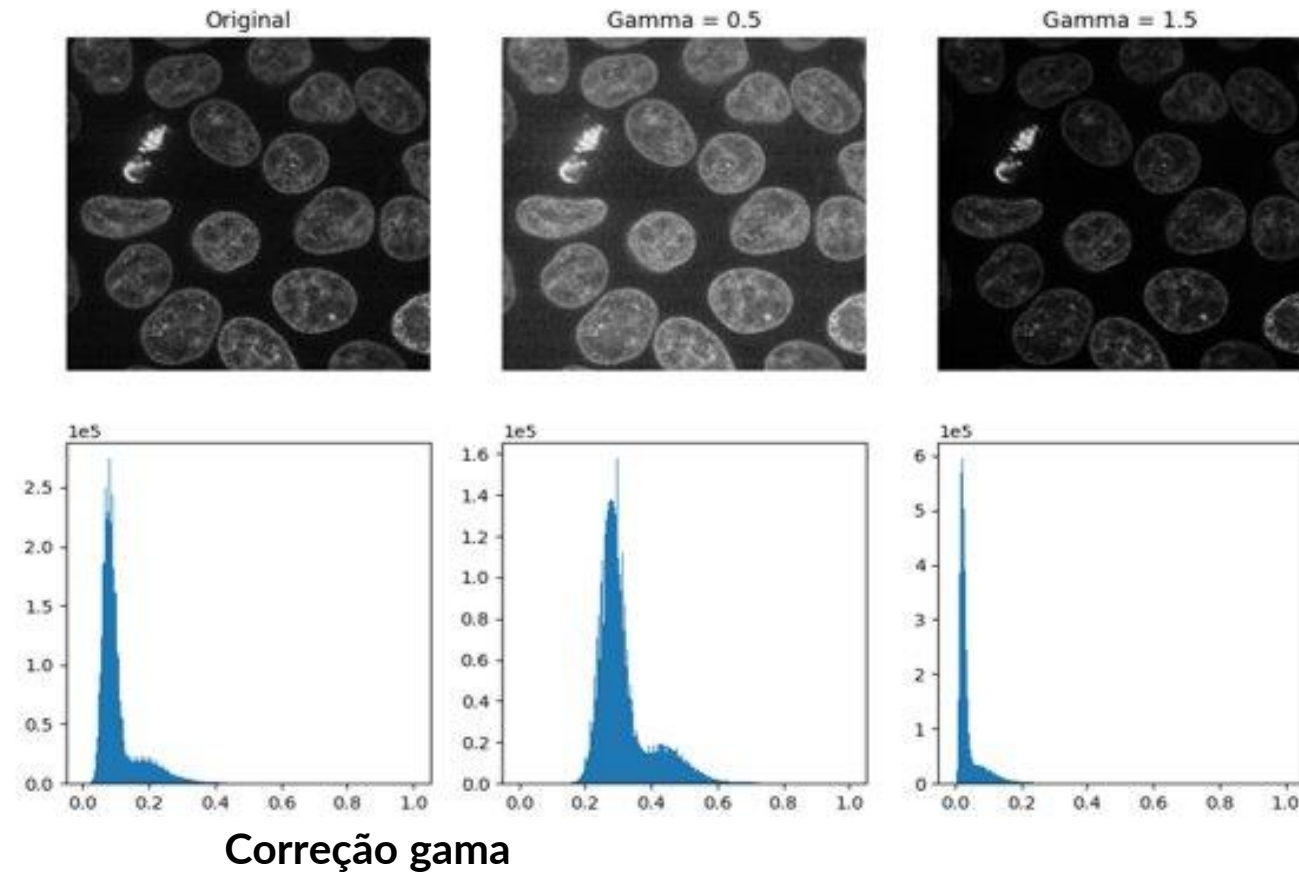
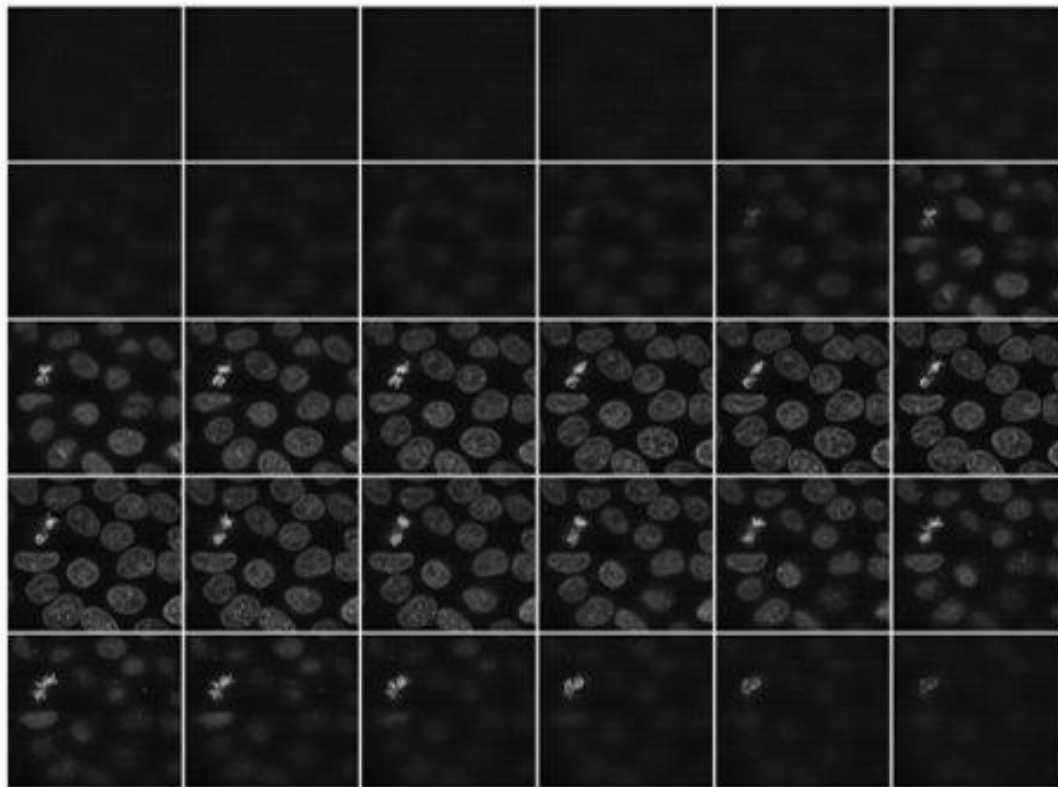
Uma boa análise de imagens requer boas imagens, anotações e metadados

- O fluxo de trabalho divide a análise de imagens biológicas em etapas

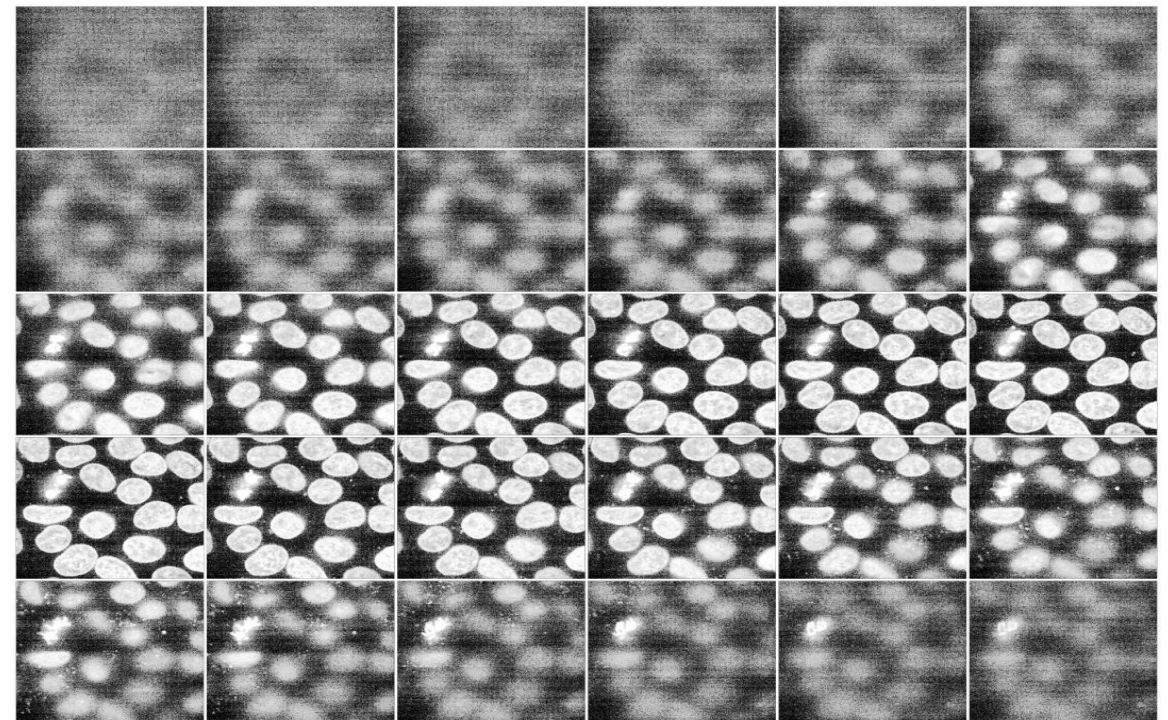
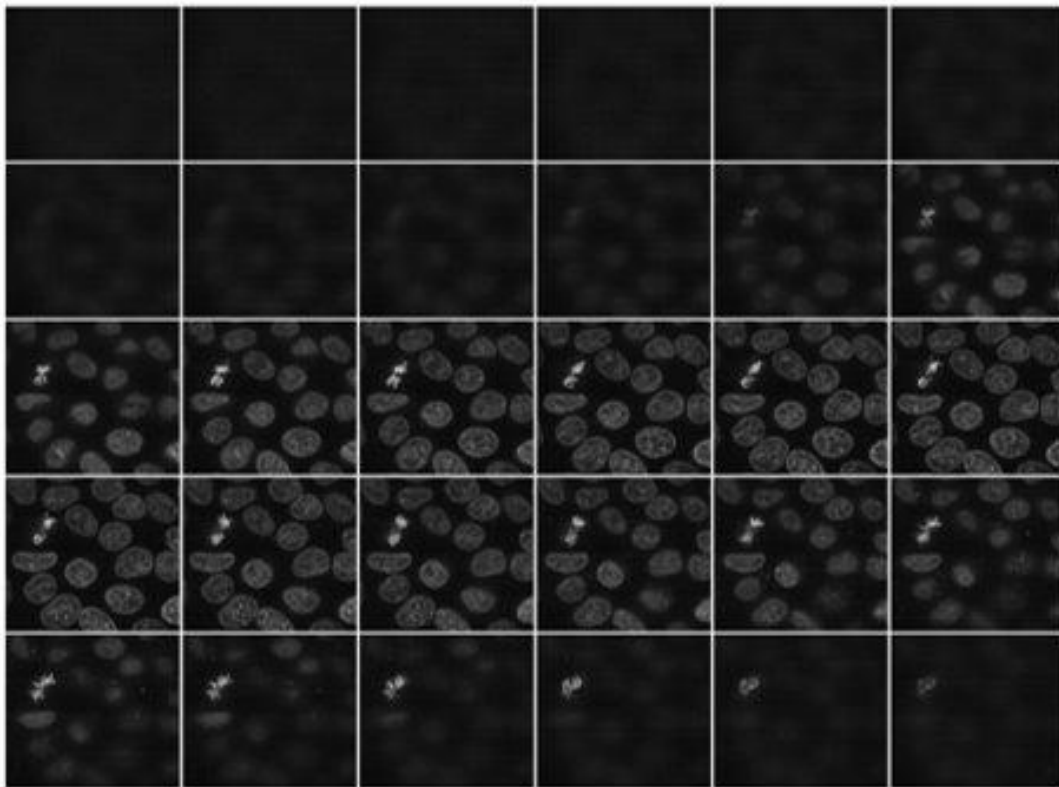


- Pré-processamento:** correção de ruído, ajuste de contraste, etc.
- Segmentação de objetos:** identificação de objetos
- Extração de características:** separação de objetos, contagem de células, medição de intensidades, etc.
- Mineração de dados:** rastreamento de objetos, agrupamento de objetos, classificação de objetos, etc.

- Pré-processamento: correção de ruído, ajuste de contraste, *thresholding*, etc.

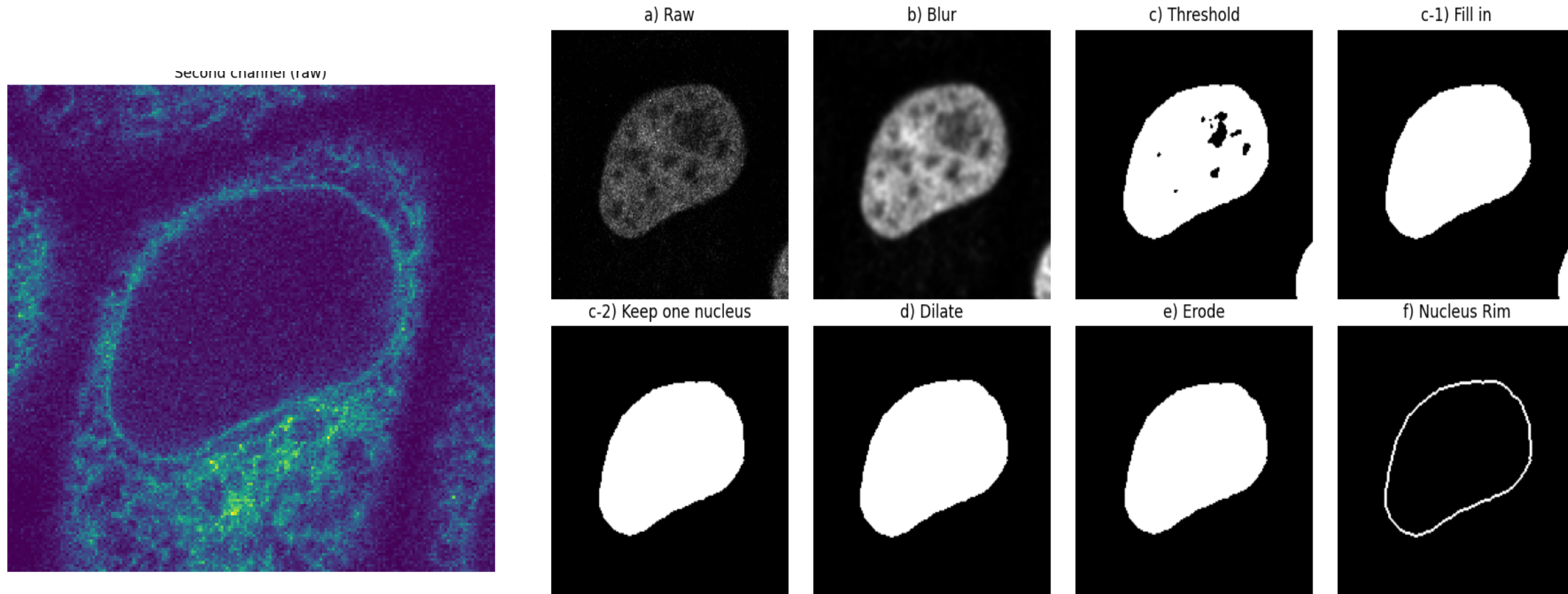


- Pré-processamento: correção de ruído, ajuste de contraste, *thresholding*, etc.



Equalização de histograma

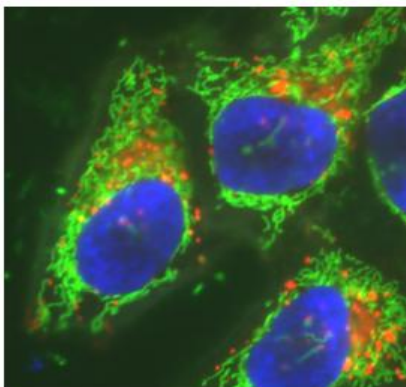
- **Segmentação de objetos:** segmentação de células, segmentação de núcleos, etc.



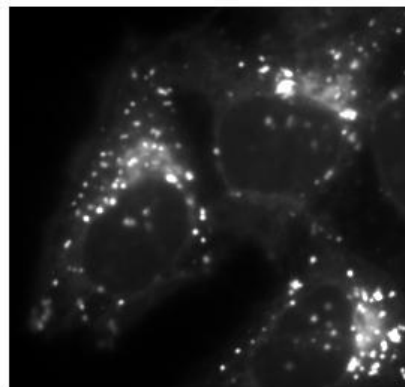
Ex.: https://scikit-image.org/docs/stable/auto_examples/applications/plot_fluorescence_nuclear_envelope.html

- **Extração de características:** separação de objetos, contagem de células, medição de intensidades, etc.

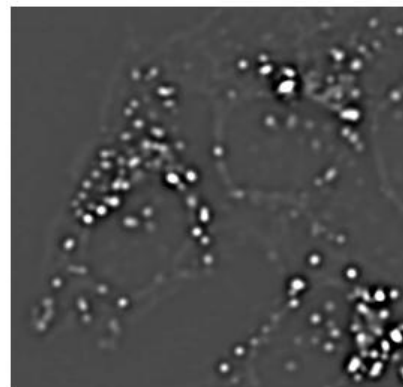
(A) Original image



(B) Extract channel



(C) Apply filters



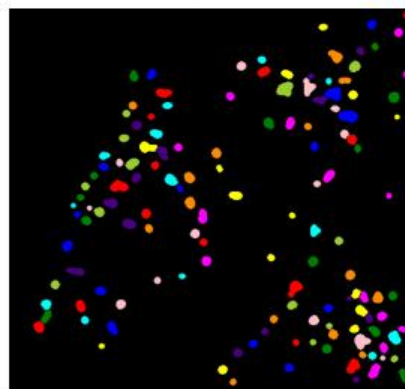
(D) Apply threshold



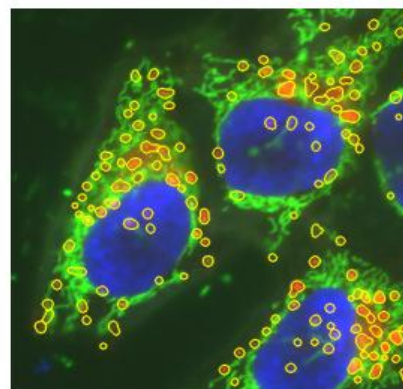
(E) Refine detection



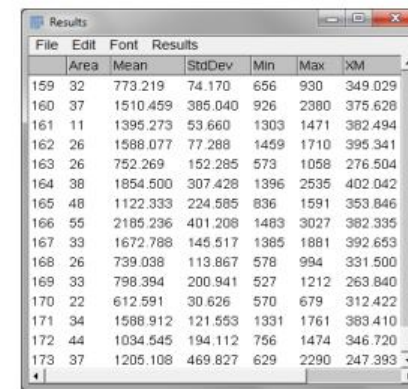
(F) Distinguish objects



(G) Relate objects to image

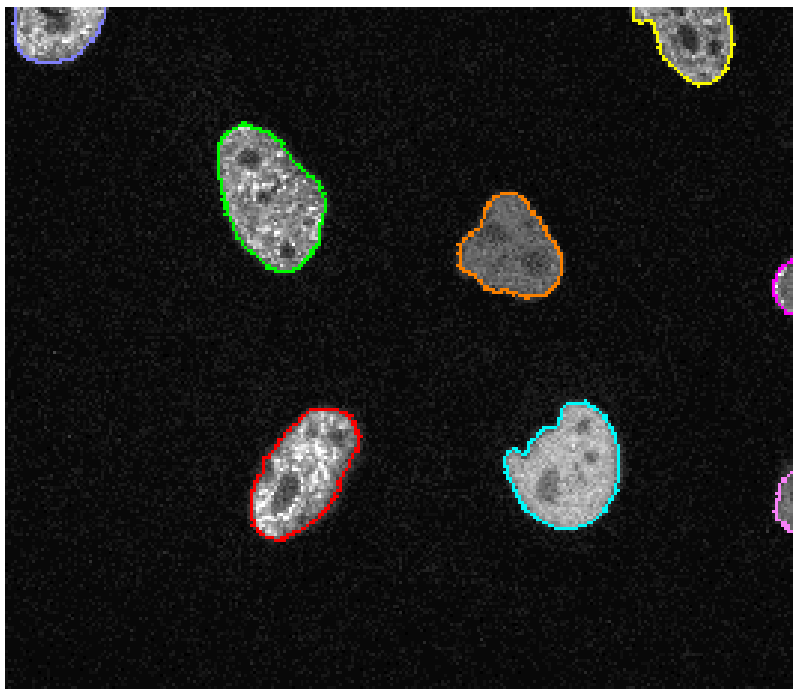


(H) Make measurements



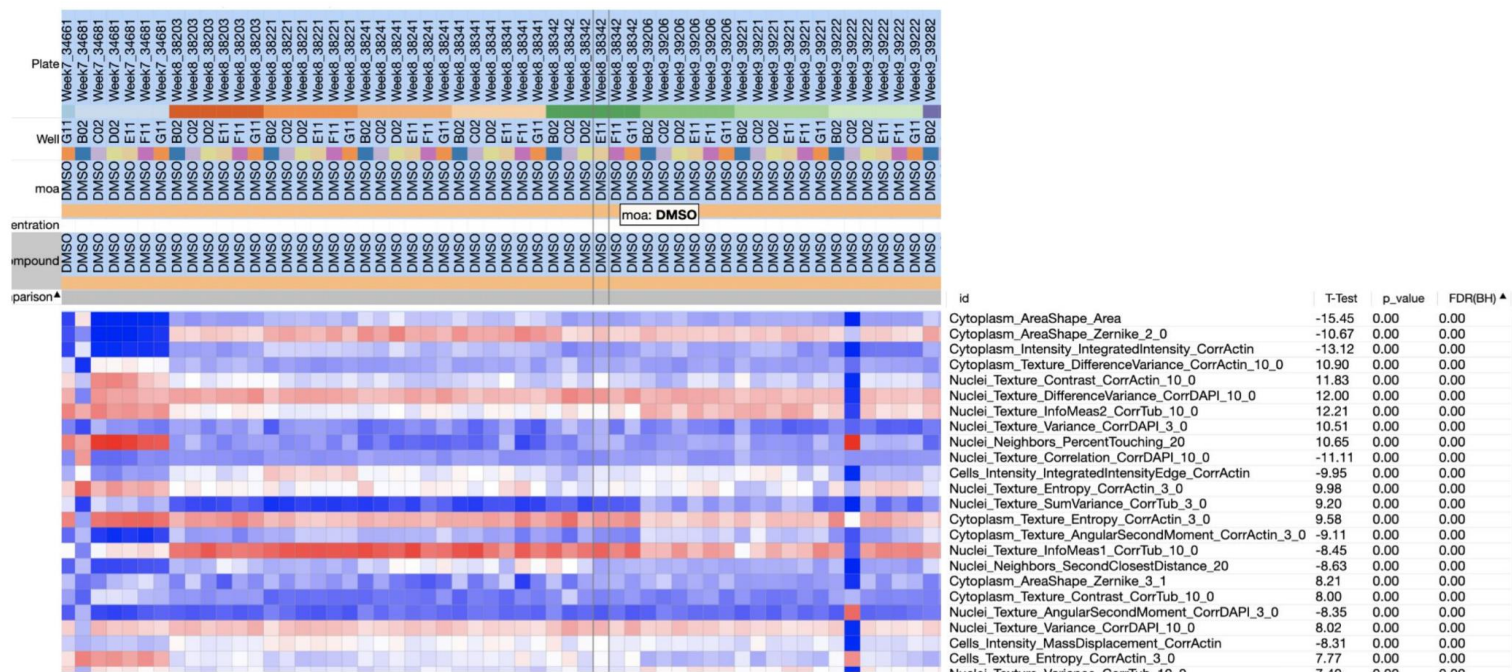
Area	Mean	StdDev	Min	Max	XM	
159	32	773.219	74.170	656	930	349.029
160	37	1510.459	385.040	926	2380	375.628
161	11	1395.273	53.660	1303	1471	382.494
162	26	1588.077	77.288	1459	1710	395.341
163	26	752.269	152.285	573	1058	276.504
164	38	1854.500	307.428	1396	2535	402.042
165	48	1122.333	224.585	836	1591	353.846
166	55	2185.236	401.208	1483	3027	382.335
167	33	1672.788	145.517	1385	1881	392.653
168	26	739.038	113.867	578	994	331.500
169	33	798.394	200.941	527	1212	263.840
170	22	612.591	30.626	570	679	312.422
171	34	1588.912	121.553	1331	1761	383.410
172	44	1034.545	194.112	756	1474	346.720
173	37	1205.108	469.827	629	2290	247.393

- Mineração de dados: rastreamento de objetos, agrupamento de objetos, classificação de objetos, etc.



Rastreamento de objetos

Ex.: <https://cellprofiler.org/previous-examples#object-tracking-and-metadata-management>



Estudo de perfil morfológico

Ex.: <https://drive.google.com/file/d/1nT8ljkZ2sujUK-3JGuTNIN2dUZ9zpON/view>

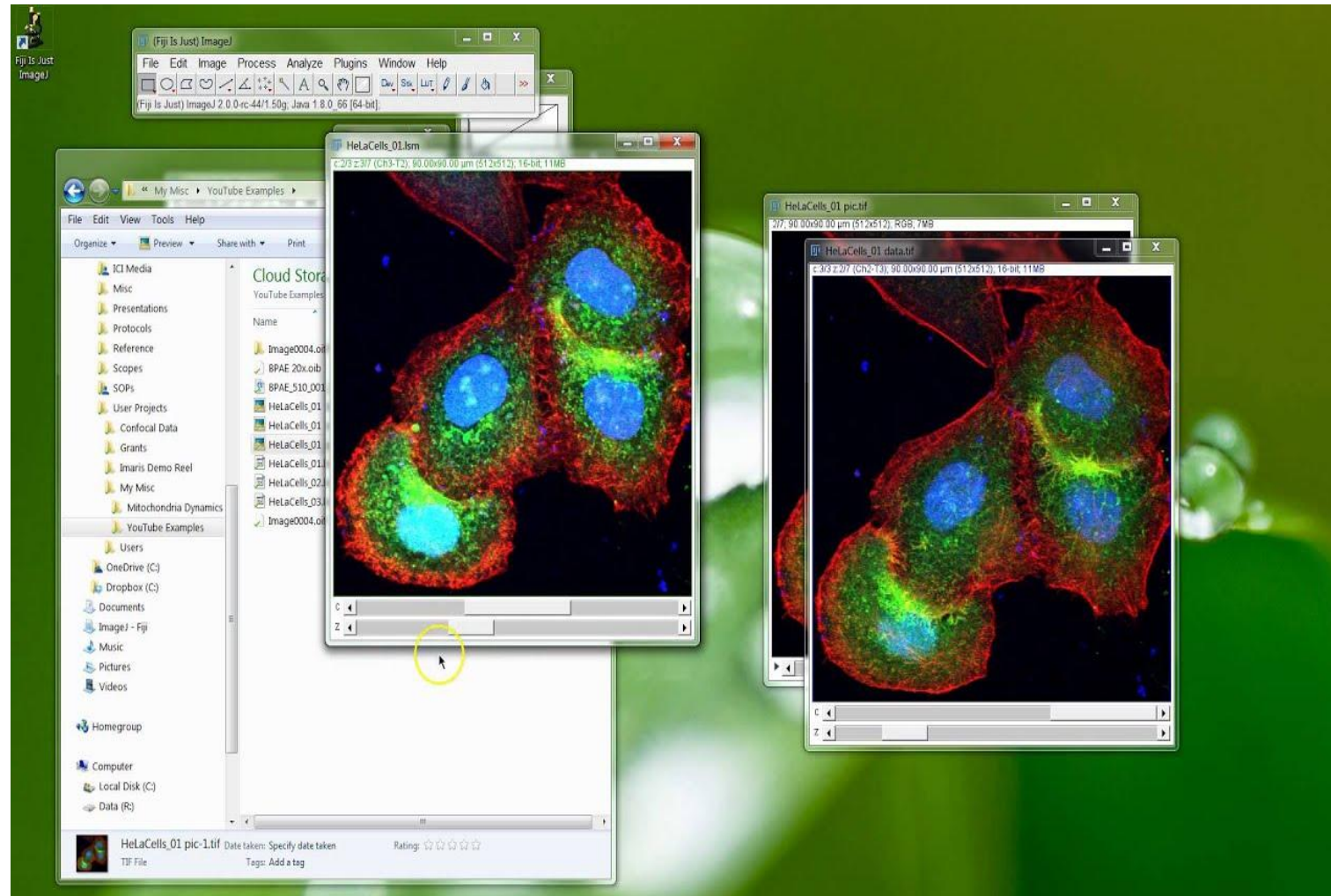
USUÁRIO GRÁFICO

- FIJI (<https://fiji.sc/>) / ImageJ (<https://imagej.net/ij/>)
Processamento e análise geral de imagens
- CellProfiler (<https://cellprofiler.org/>)
Análise automatizada em larga escala
- ilastik (<https://www.ilastik.org/>)
Classificação de pixels baseada em ML
- Napari (<https://napari.org/>)
Visualização interativa (2D/3D)
- Icy (<https://icy.bioimageanalysis.org/>)
Plataforma modular para análise de imagens → *plugins*
- QuPath (<https://qupath.github.io/>)
Análise de imagens histológicas (patologia digital)

PROGRAMAÇÃO

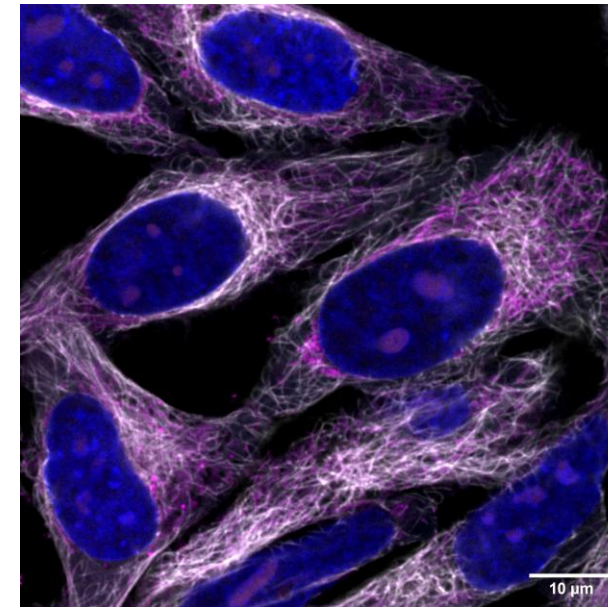
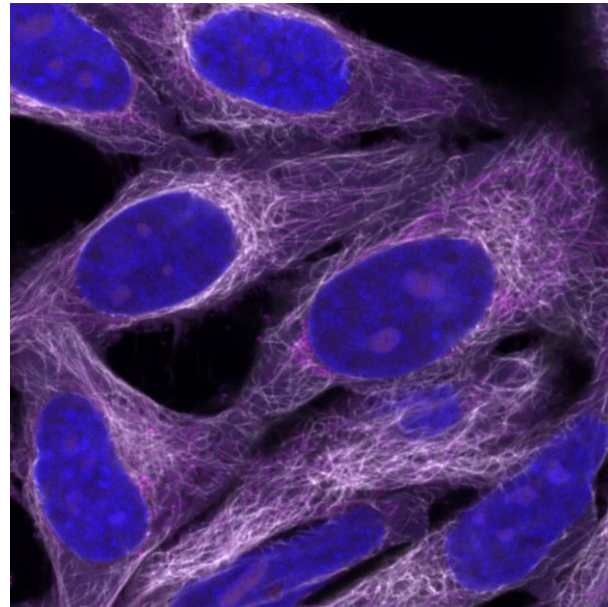
- scikit-image (<https://scikit-image.org/>)
Processamento de imagens em Python
- scipy.ndimage (<https://docs.scipy.org/doc/scipy/reference/ndimage.html>)
Operações básicas e filtros em imagens
- OpenCV (<https://opencv.org/>)
Visão computacional e processamento avançado
- EBImage (10.18129/B9.bioc.EBImage)
Análise de imagens em R
- CellPose (<https://www.cellpose.org/>)
Segmentação de células com DL
- StarDist (<https://stardist.net/>)
Segmentação de objetos com formato estrelado (ex: núcleos)

Fiji (Fiji is just ImageJ): Atividade prática





- **ImageJ:** Robusto e Gratuito, suporte a plugins.
- **Porque usar Fiji?** Apresenta vários plugins e ferramentas já inclusas ao ImageJ para facilitar o uso.
- **Bioformats:** Permite abrir arquivos proprietários de diversos fabricantes de microscópios (Zeiss, Nikon, Leica, Olympus) e outros formatos abertos (OME-TIFF).



- **Objetivo:** Demonstrar capacidades básicas do software e fomentar o contato inicial.

- Software e análise de biomagens
 - JAN, M. et al. From pixels to insights: Machine learning and deep learning for bioimage analysis. *BioEssays*, Wiley, v. 46, n. 2, dez. 2023. ISSN 1521-1878. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/bies.202300114>.
 - HAASE, R. et al. A hitchhiker's guide through the bio-image analysis software universe. *FEBS Letters*, Wiley, v. 596, n. 19, p. 2472–2485, jul. 2022. ISSN 1873-3468. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/1873-3468.14451>.
- Padrões e recomendações sobre metadados (MIFA e ReMBI)
 - Zulueta-Coarasa, T., Jug, F., Mathur, A. et al. MIFA: Metadata, Incentives, Formats and Accessibility guidelines to improve the reuse of AI datasets for bioimage analysis. *Nat Methods* **22**, 2245–2252 (2025). <https://doi.org/10.1038/s41592-025-02835-8>.
 - Sarkans, U., Chiu, W., Collinson, L. et al. REMBI: Recommended Metadata for Biological Images—enabling reuse of microscopy data in biology. *Nat Methods* **18**, 1418–1422 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01166-8>.

OBIGADO

João Victor Guerra

joao.guerra@lnbio.cnpem.br

+55 (19) 3212-1113

Thayná M. Avelino

thayna.avelino@lnbio.cnpem.br

+55 (19) 3212-2457



Inscreva-se para
receber comunicados
sobre o CNPEM
e suas unidades

Equipe de Dados Biológicos – EDB
edb@lnbio.cnpem.br

Laboratório de Imagens Biológicas – LIB
coordenadoreslib@lnbio.cnpem.br

Laboratório de Bioensaios – LBE
lbesuporte@lnbio.cnpem.br

cnpem.br



CNPEM
Centro Nacional de Pesquisa
em Energia e Materiais

MINISTÉRIO DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA
E INOVAÇÃO

