

DETECCIÓN DE LEUCOCITOS PRESENTES EN IMÁGENES MICROSCÓPICAS UTILIZANDO SHADES OF GRAY Y DETERMINANTE HESSIANO

José Javier Soto-Godínez, Mario I. Chacón-Murguía
Laboratorio de Percepción Visual, Instituto Tecnológico de Chihuahua
Ave. Tecnológico No. 2909, 31310, Chihuahua, Chih., México

RESUMEN.

La segmentación y detección de leucocitos en imágenes microscópicas desempeñan un papel crucial en varias aplicaciones médicas, incluyendo el diagnóstico y monitoreo de enfermedades. Este artículo presenta un estudio sobre la detección de leucocitos en imágenes capturadas a través de un microscopio con una magnificación de 40x. El método propuesto utiliza técnicas de procesamiento de imágenes, incluyendo la conversión de RGB a CIE L*A*B, el método Shades of Gray al cuadrado y la detección de regiones utilizando el determinante Hessiano. El rendimiento del método se evalúa utilizando un conjunto de datos de imágenes de leucocitos y los resultados demuestran la eficacia del enfoque propuesto en la detección de leucocitos, logrando una precisión del 92.32% con una tasa de error del 0.44%.

Palabras Clave: Segmentación de leucocitos, Shades of Gray, determinante Hessiano, imágenes médicas.

ABSTRACT.

Segmentation and detection of leukocytes in microscopic images play a crucial role in several medical applications, including disease diagnosis and monitoring. This paper presents a study on the detection of leukocytes in images captured through a microscope with a magnification of 40x. The proposed method uses image processing techniques, including RGB to CIE L*A*B conversion, the Squared Shades of Gray method, and region detection using the Hessian determinant. The performance of the method is evaluated using a dataset of leukocyte images, and the results demonstrate the effectiveness of the proposed approach in leukocyte detection, achieving a precision of 92.32% with an error rate of 0.44%.

Key words: Leukocyte segmentation, Shade of Gray, Hessian determinant, medical imaging.

1. INTRODUCCIÓN

Los leucocitos, comúnmente conocidos como glóbulos blancos, desempeñan un papel crucial en el sistema inmunológico humano al defender el cuerpo contra infecciones y enfermedades. Estas células son responsables de identificar y eliminar patógenos, regular las respuestas inflamatorias y facilitar la defensa inmunológica general del cuerpo. Por lo tanto, la detección precisa de los leucocitos en imágenes médicas es de suma importancia para diagnosticar y monitorear diversas enfermedades.

La detección de leucocitos en imágenes microscópicas, ha sido objeto de extensa investigación y desarrollo. La capacidad de

identificar y analizar con precisión los leucocitos proporciona información valiosa sobre la funcionalidad del sistema inmunológico, ayuda en el diagnóstico de enfermedades y asiste a los profesionales médicos en la toma de decisiones sobre los planes de tratamiento de los pacientes. Sin embargo, esta tarea presenta numerosos desafíos.

En el artículo de Rivas-Posada et al. [1], se propone el uso del método Shades of Gray (SoG) como parte de una metodología de clasificación de leucocitos. El método SoG, originalmente utilizado en el diagnóstico de lesiones cutáneas, se implementa y ajusta específicamente para clasificar imágenes de leucocitos. Los autores también introducen una variante llamada SoG², que consiste en aplicar el método SoG dos veces con diferentes parámetros. Por otro lado, F. Rustam et al. [2] emplean técnicas avanzadas de procesamiento de imágenes y modelos de aprendizaje profundo para clasificar células blancas de la sangre, logrando altas precisiones. Además, sugieren explorar este enfoque en otros tipos de células o imágenes médicas. En un estudio comparativo realizado por N. Salem, N. M. Sobhy y M. E. Dosoky [3], se utiliza el método de umbral de Otsu para la segmentación de células blancas de la sangre, obteniendo una precisión del 91,7% en la separación de leucocitos individuales y células agrupadas. Estos estudios destacan la importancia de métodos y técnicas avanzadas en la clasificación y segmentación de células blancas de la sangre en imágenes microscópicas, y sugieren posibles mejoras y enfoques a explorar en futuras investigaciones.

En el presente artículo, se propone un enfoque para la segmentación y detección de leucocitos. El método aprovecha los métodos SOG² (Shades of Gray) aplicado al espacio de color CIE L*A*B y detección de regiones utilizando el determinante Hessiano, para lograr una segmentación precisa y eficiente de los leucocitos. El objetivo principal es superar los desafíos planteados por las variaciones de tinte de la imagen, al tiempo que se mejora el contraste para una mejor diferenciación entre las células y el fondo.

La capacidad de identificar y analizar con precisión los leucocitos tiene un valor significativo en el campo de la medicina. Esta investigación busca mejorar la precisión y eficiencia de la segmentación y detección de leucocitos, lo que puede tener un impacto directo en el diagnóstico temprano y el monitoreo de enfermedades relacionadas con el sistema inmunológico. Se espera proporcionar a los profesionales

médicos una herramienta efectiva y confiable para el análisis de imágenes de leucocitos, lo que puede conducir a mejores decisiones de tratamiento y resultados para los pacientes.

2. TRABAJOS PREVIOS

La segmentación y detección de leucocitos en imágenes médicas han sido objeto de una extensa investigación, con diversas técnicas propuestas para abordar los desafíos involucrados. En esta sección, se discuten algunos estudios relevantes que han contribuido al campo del análisis de leucocitos detectando sus hallazgos clave.

Un enfoque para la segmentación de leucocitos se basa en la umbralización de nivel de gris. Liao y Deng propusieron una técnica que utilizaba la umbralización de nivel de gris para la segmentación de leucocitos [4]. Este método implica seleccionar un valor de umbral adecuado para separar los leucocitos del fondo basado en los niveles de intensidad. Si bien la umbralización de nivel de gris puede ser efectiva en ciertos casos, puede tener dificultades con imágenes que tienen altas variaciones de color e intensidad entre los leucocitos, lo que limita su precisión.

Kumar y Sreenivas [5] introdujeron el operador de energía de Teager para segmentar los límites de los núcleos, con el objetivo de identificar los límites de los núcleos de los leucocitos a través del análisis de la distribución de energía en la imagen. Aunque esta segmentación proporciona información valiosa, no abarca la totalidad del leucocito, lo que limita su aplicación en el análisis integral. Por su parte, Theera-Umporn propuso una técnica que combina la agrupación difusa de c-medias con la morfología para segmentar los leucocitos [6], permitiendo asignar píxeles a múltiples grupos según sus grados de membresía y empleando operaciones de morfología para refinar los resultados. Esta estrategia ha mostrado resultados prometedores, especialmente en imágenes ruidosas y formas de leucocitos complejas. Por otro lado, N. Sriraam y S. Krishnaveni utilizaron la umbralización de Otsu multinivel para segmentar los núcleos de los leucocitos [7], basándose en un método adaptativo que calcula un valor de umbral óptimo para separar objetos del fondo. Sin embargo, la segmentación de núcleos por sí sola puede no proporcionar un análisis completo del leucocito, ya que podrían perderse valiosos detalles de su forma y características celulares. M. Chakraborty et al. propusieron un método basado en la ortogonalización de Gram-Schmidt para identificar los núcleos de los leucocitos y detectar los basófilos [8], transformando la imagen en un conjunto de componentes ortogonales que permiten identificar tipos específicos de leucocitos. Aunque es eficaz para la detección de basófilos, este enfoque puede requerir pasos adicionales para analizar otros tipos de leucocitos de manera integral. Por último, Mohapatra et al. presentaron una técnica de agrupación difusa aproximada para la segmentación no supervisada de imágenes de leucocitos con el fin de identificar la leucemia [9], mediante algoritmos de agrupación difusa aproximada que segmentan y clasifican los leucocitos en diferentes tipos. Aunque este enfoque demuestra robustez frente

a variaciones en la apariencia y forma de los leucocitos, la naturaleza no supervisada puede plantear desafíos para lograr una segmentación precisa en ciertos escenarios. Si bien estos métodos existentes han contribuido significativamente al campo de la segmentación y detección de leucocitos, cada enfoque tiene sus propias fortalezas y limitaciones. El enfoque propuesto en este estudio adopta una estrategia distinta al utilizar los métodos SOG² y detección de regiones para lograr un reconocimiento adecuado de los leucocitos en imágenes médicas microscópicas. Al centrarse en el componente A del espacio de color CIE L*A*B y mejorar el contraste, se abordan también los desafíos relacionados con la variación de tinte de las imágenes.

3. DESCRIPCIÓN DEL ALGORITMO.

El algoritmo propuesto, Figura 1, utiliza una serie de etapas y técnicas de procesamiento de imágenes con el objetivo de lograr una segmentación precisa y eficiente de las células de interés. A continuación, se proporciona una descripción detallada de cada componente del algoritmo.

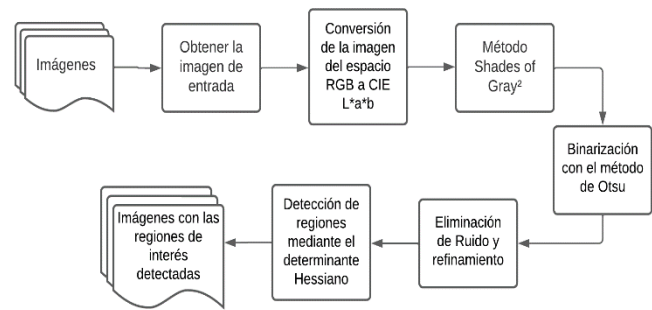


Figura 1. Diagrama de la metodología.

3.1. Conversión al espacio CIE L*A*B

El espacio de color CIE L*A*B, se utiliza ampliamente en el procesamiento de imágenes debido a su capacidad para separar la información de luminancia (L) de la información de los canales de color A y B. En el proceso de detección de leucocitos en imágenes microscópicas, se selecciona la componente A del espacio de color L*A*B debido a su capacidad para representar la variación del color rojo-verde. Esta componente se elige porque los leucocitos tienen un color característico en este rango espectral, lo que facilita su distinción del fondo y otros elementos presentes en la imagen. Al aislar y analizar la componente A, se obtiene información relevante para identificar y segmentar con precisión los leucocitos en el proceso de análisis de imágenes microscópicas, Figura 2. La fórmula de conversión entre el espacio RGB a CIE L*A*B se muestra en la Ec. 1.

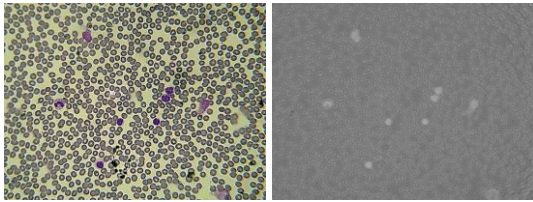
$$L^* = 116 \cdot f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) - 16$$

$$a^* = 500 \cdot \left(f\left(\frac{X}{Y_n}\right) - f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) \right) \quad (1)$$

$$b^* = 200 \cdot \left(f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) - f\left(\frac{Z}{Y_n}\right) \right)$$

Donde L^* es la luminosidad, a^* y b^* son las dimensiones acromáticas de la saturación, X , Y , Z son los valores de las coordenadas RGB normalizadas, Y_n es el valor de Y para el blanco de referencia y $f(x)$ es una función de transformación, la cual está definida por la Ec. 2:

$$f(x) = \begin{cases} x^{\frac{1}{3}} & \text{si } x \geq 0.008856 \\ 7.787 \cdot x + \frac{16}{116} & \text{si } x < 0.008856 \end{cases} \quad (2)$$



a) Imagen original b) Componente A CIE L*A*B

Figura 2. CIE L*A*B

3.2. Método "Shades of Gray"

El método "Shades of Gray" se utiliza para mejorar el brillo y contraste de la imagen de entrada y en este trabajo se aplica a la componente A de CIE L*A*B. Esto se logra mediante la aplicación de operaciones matemáticas, incluyendo la corrección gamma, normalización de color y transformación de potencia. Primeramente, la corrección gamma se realiza utilizando la Ec. 3:

$$pixel_value_out = pixel_value_in^\gamma \quad (3)$$

donde $pixel_value_in$ es el valor de entrada del píxel y γ es el parámetro de corrección gamma. En [1] realizan la comparación de varios valores de γ al igual que en [10], que propone el valor de 2.2 correspondiente a dicha variable. La normalización de color se lleva a cabo utilizando la Ec. 4:

$$pixel_value_out = \frac{pixel_value_in - min_value}{max_value - min_value} \quad (4)$$

donde min_value y max_value son los valores mínimo y máximo encontrados en la imagen original por cada canal correspondientes a una imagen RGB. Por último, la transformación de potencia se realiza utilizando la Ec. 5:

$$pixel_value_out = k \cdot (pixel_value_in^\gamma) \quad (5)$$

Donde k es una constante de ajuste, la cual multiplicada por ($pixel_value_in^\gamma$) simula que los valores del píxel fueron obtenidos bajo una cierta fuente de luz. El valor de k se calcula con la Ec. 6, la cual corresponde a la distancia euclidiana.

$$k = \sqrt{(I_R)^2 + (I_G)^2 + (I_B)^2} \quad (6)$$

De la cual I_R , I_G y I_B corresponden a cada componente de color que forman a la imagen original.

Después de aplicar estas operaciones, el valor del píxel resultante se acota utilizando la Ec. 7:

$$pixel_value_out = \max(0, \min(pixel_value_in, 255)) \quad (7)$$

para asegurar que los valores se mantengan dentro del rango válido, generalmente entre 0 y 255 para imágenes en escala de grises o en su defecto los valores definidos por cada canal de la imagen. Este proceso ayuda a mejorar la visualización de la imagen y preservar la información perceptible.

En [1] hacen la comparativa con distintos valores de γ y k además de que se propone un método de semi segmentación llamado SOG², con el que se logran buenos resultados, eliminando el fondo y las células rojas, pero conservando el núcleo de los leucocitos presentes en la imagen, por lo que se decidió hacer uso de lo propuesto en el presente artículo, lo cual consiste en una vez obtenida la imagen con los primeros valores de γ y k volver procesar la imagen con otros valores distintos de las variables al anteriormente comentadas, obteniendo con ello una semi segmentación como le llaman en [1]. base a lo propuesto por los autores de [1], se seleccionan los valores para γ_1 , k_1 , γ_2 y k_2 para la implementación en el algoritmo de este artículo, las cuales corresponden a $\gamma_1 = 0.1$, $k_1 = 0.8$, $\gamma_2 = 1.7$ y $k_2 = 0.2$. Muestra de la implementación del método SOG² con los valores anteriormente definidos se pueden apreciar en la Figura 3.



Figura 3. Resultado de SOG2

3.3. Binarización por método Otsu

La binarización de Otsu es un método utilizado para obtener un umbral óptimo, el cual es utilizado en este caso para ayudar a separar los leucocitos del fondo de la imagen. Se basa en el cálculo de la varianza entre las clases de píxeles utilizando una combinación de dos distribuciones gaussianas. La Ec. 8

correspondiente al umbral optimo se puede resumir de la siguiente manera:

$$T_{opt} = \arg \max \{\sigma_B^2(t)\} \quad (8)$$

En donde su varianza entre clases ponderada ($\sigma_B^2(t)$) es:

$$\sigma_B^2(t) = \omega_1(t) \cdot \omega_2(t) \cdot [\mu_1(t) - \mu_2(t)]^2 \quad (9)$$

De lo cual: $\omega_1(t)y\omega_2(t)$ son las probabilidades acumuladas de los niveles de gris y finalmente $\mu_1(t)y\mu_2(t)$ son las medias de los niveles de gris (t).

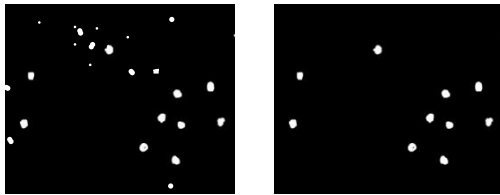
3.4. Eliminación de ruido y refinamiento

Una vez que se obtiene la imagen resultante de la aplicación del método SOG², se realiza un proceso de eliminación de ruido y refinamiento sobre la máscara binaria obtenida en el paso de binarización. Esto se logra mediante operaciones morfológicas, en el presente caso utilizando la operación de apertura que consiste en realizar primeramente la erosión, Ec. 10 seguida de la dilatación, Ec. 11, que ayudan a eliminar el ruido o artefactos no deseados y a su vez resaltando regiones de interés, Figura 4. Estas operaciones se aplican utilizando elementos estructurales y consisten en reducir los contornos de los objetos mediante la erosión y ampliarlos mediante la dilatación.

$$\text{output}(x, y) = \min_{i,j} (\text{mask}(x + i, y + j) \ominus \text{kernel}(i, j)) \quad (10)$$

$$\text{output}(x, y) = \max_{i,j} (\text{mask}(x + i, y + j) \oplus \text{kernel}(i, j)) \quad (11)$$

En las ecuaciones anteriores, Ec. 10 y Ec. 11, se utiliza la notación $\text{mask}(x + i, y + j)$ para representar los valores correspondientes en la imagen de entrada que han sido desplazados por un vector (i, j) . El $\text{kernel}(i, j)$ denota el elemento estructurante utilizado en la operación de erosión o dilatación. Se almacena el resultado de cada operación en una variable denominada $\text{output}(x, y)$.



(a) Antes del refinamiento (b) Después del refinamiento
Figura 4. Refinamiento

3.5. Determinante Hessiano

El determinante hessiano es una herramienta importante en la detección de regiones, y puede ser aplicado en la detección de

leucocitos en imágenes médicas [14][15]. El hessiano de una función $f(x, y)$ se define como una matriz de segundas derivadas parciales. El determinante del hessiano se utiliza para identificar regiones de una imagen donde hay cambios bruscos en la intensidad de los píxeles, lo cual puede indicar la presencia de objetos como leucocitos.

El hessiano de una función $f(x, y)$ se define como una matriz de segundas derivadas parciales, Ec.12:

$$H = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} & \frac{\partial^2 f}{\partial x \partial y} \\ \frac{\partial^2 f}{\partial y \partial x} & \frac{\partial^2 f}{\partial y^2} \end{bmatrix} \quad (12)$$

El determinante del hessiano se calcula mediante la Ec. 13:

$$\det(H) = \left(\frac{\partial^2 f}{\partial x^2}\right)\left(\frac{\partial^2 f}{\partial y^2}\right) - \left(\frac{\partial^2 f}{\partial x \partial y}\right)\left(\frac{\partial^2 f}{\partial y \partial x}\right) \quad (13)$$

En el caso de la detección de regiones, buscamos puntos críticos que correspondan a máximos locales en la imagen. Estos máximos locales indican regiones brillantes o claras en comparación con su entorno, como las regiones donde se encuentran los leucocitos en imágenes de microscopía. El determinante del hessiano se calcula en estos puntos críticos, y se utilizan enfoques como el algoritmo de Laplaciano de Gaussiano (LoG) o el método del determinante hessiano para identificar estas regiones [14][15].

El algoritmo de Laplaciano de Gaussiano (LoG) suaviza primero la imagen con un filtro Gaussiano y luego calcula el determinante del hessiano para identificar los máximos locales en la imagen suavizada [14]. Por otro lado, el método del determinante hessiano calcula el determinante directamente en la imagen original y encuentra los puntos críticos utilizando un umbral en el valor del determinante [15].

4. RESULTADOS

El método propuesto fue evaluado utilizando un conjunto de datos compuesto por 60 imágenes microscópicas seleccionadas al azar de una serie de 352 imágenes. Durante la evaluación, se aplicaron métricas de precisión, Ec. 14, y tasa de error, Ec. 15, las cuales se obtuvieron con ayuda de la matriz de confusión, Figura 5, obtenida de la comparación de los ground truth y la imagen resultante arrojada por el algoritmo.

$$PR = \frac{VP}{(VP+FP)} \quad (14)$$

$$ER = \frac{FN}{(FN+VP)} \quad (15)$$

Donde VP corresponde a verdaderos positivos, FP a falsos positivos y FN a falsos negativos.

		ACTUAL	
		Positivo	Negativo
PREDICCIÓN	Positivo	445	37
	Negativo	2	-

Figura 5 Matriz de confusión

Se determinó que la precisión del método alcanzó un valor del 92.32%. Esta métrica representa la fracción de leucocitos correctamente identificados en relación con el total de leucocitos presentes en las imágenes evaluadas. En otras palabras, el 92.32% de los leucocitos presentes en las imágenes fueron detectados correctamente.

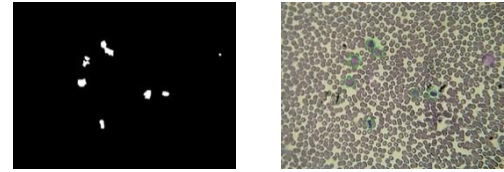
Además, se calculó una tasa de error del 0.44%. Esta tasa de error indica que solo el 0.44% de los leucocitos presentes en las imágenes no fueron detectados por el método evaluado.

Estos resultados demuestran la efectividad del método propuesto para la segmentación y detección de leucocitos en imágenes microscópicas. Es importante tener en cuenta que el algoritmo desarrollado presenta un mejor desempeño en imágenes que presentan un fondo con un tinte homogéneo, generalmente inclinado hacia tonalidades verdes, y donde existe una clara diferencia de color entre los glóbulos rojos y cada leucocito, así como también con el fondo, Figura 6. En caso de utilizarse diferentes tipos de imágenes, es posible que el algoritmo no alcance la misma precisión obtenida en este estudio, pero realizando un ajuste de parámetros se podría obtener un buen resultado.

La precisión obtenida por el método es especialmente significativa considerando que se utilizó un método simple a comparación de un modelo de aprendizaje profundo, el cual requiere de más muestras y capacidad computacional. El enfoque propuesto, basado en la función "SOG²" y la detección de regiones con el determinante Hessiano, aborda de manera efectiva estos desafíos y resulta en una alta tasa de precisión. Además, la baja tasa de error del 0.44% respalda aún más la robustez del método evaluado. Esta reducida cantidad de leucocitos no detectados indica la capacidad del método para capturar e identificar con precisión la mayoría de los leucocitos presentes en las imágenes evaluadas. Por lo tanto, esta baja tasa de error se convierte en un indicador de la confiabilidad del método y destaca su potencial para su aplicación en el ámbito clínico.

El desempeño obtenido del método propuesto lo convierte en una opción prometedora para su uso clínico. La detección precisa de leucocitos es elemento importante en el diagnóstico de enfermedades como la leucemia y la anemia, ya que las irregularidades en el recuento y la forma de los leucocitos pueden indicar condiciones subyacentes. La precisión lograda puede garantizar resultados confiables, permitiendo a los profesionales

médicos tomar decisiones basadas en los leucocitos identificados mediante el método propuesto.



a) Imágenes binarizadas b) imágenes con regiones marcadas
 Figura 6. Ejemplo de Resultados

5. CONCLUSIONES

En este estudio se presenta un enfoque innovador y prometedor para la segmentación y detección de leucocitos en imágenes microscópicas mediante el uso de técnicas de procesamiento de imágenes tradicionales. Los leucocitos, como elementos cruciales del sistema inmunológico, desempeñan un papel fundamental en el diagnóstico de enfermedades como la leucemia y la anemia. La identificación y análisis precisos de los leucocitos en imágenes médicas resultan esenciales para un diagnóstico médico efectivo y un seguimiento adecuado.

El método propuesto en este estudio se basa en las características de color de los leucocitos y aprovecha las ventajas del espacio de color CIE L*A*B y la aplicación de la función "Shades of Gray" (SoG²), mejorando eficazmente el brillo y el contraste de las imágenes, permitiendo una mejor visualización y diferenciación de los leucocitos del fondo y los glóbulos rojos. La posterior aplicación de la binarización de Otsu y la detección de regiones utilizando el determinante Hessiano permite lograr una segmentación y detección precisa de los leucocitos en diferentes escalas.

La evaluación del método en un conjunto de datos compuesto por 60 imágenes microscópicas arrojó resultados prometedores, utilizando métodos sencillos de procesamiento de imágenes, con una precisión del 92.32% en la detección de leucocitos, y una tasa de error de tan solo 0.44%. Estas métricas validan aún más la precisión y confiabilidad del enfoque propuesto.

Una de las ventajas destacadas del algoritmo propuesto radica en su simplicidad y facilidad de implementación. Al centrarse en la variación de color de los leucocitos, se brinda una solución directa que puede aplicarse con facilidad en instalaciones médicas y laboratorios de investigación. Además, la eficiencia computacional del método lo hace adecuado para una implementación generalizada e integración en sistemas de diagnóstico médico existentes.

Además, el método muestra robustez ante el ruido, un aspecto desafiante en tareas de procesamiento de imágenes. El paso de mejora mediante la función "SoG²" ayuda a mitigar el impacto del ruido y las variaciones de color y forma entre los leucocitos, lo que conlleva a una segmentación y detección más precisa. Esta robustez mejora la confiabilidad y utilidad del método propuesto en escenarios del mundo real donde las imágenes pueden contener ruido u otros artefactos.

Las aplicaciones potenciales del enfoque propuesto en diagnóstico médico, monitoreo e investigación son significativas. La segmentación y detección precisa de leucocitos resulta fundamental para el diagnóstico de enfermedades como la leucemia y la anemia, lo que permite a los profesionales de la salud tomar decisiones informadas y proporcionar un tratamiento oportuno. Además, se abren oportunidades para una investigación y análisis más profundos del comportamiento y las características de los leucocitos, lo que contribuye a una comprensión más profunda de los trastornos del sistema inmunológico y sus mecanismos subyacentes.

Aunque el método propuesto ha mostrado resultados prometedores, aún existen áreas para futuras mejoras y exploración. Una validación y prueba adicionales en conjuntos de datos más grandes y diversos fortalecerían la generalización y confiabilidad del enfoque. Además, la incorporación de técnicas de aprendizaje profundo podría mejorar la adaptabilidad y el rendimiento del método, permitiendo manejar escenarios más complejos y variaciones en las características de los leucocitos.

6. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al tecnológico Nacional de México/I.T. Chihuahua por el financiamiento de esta investigación bajo el proyecto 16431.23-P.

7. REFERENCIAS

- [1] E. Rivas-Posada, M. I. Chacón-Murguía, J. A. Ramírez-Quintana y C. Arzate-Quintana, "Classification of Leukocytes Using Meta-Learning and Color Constancy Methods", *Jurnal Ilmiah Teknik Elektro Komputer dan Informatika*, vol. 8, n.º 4, pp. 486, diciembre de 2022.
- [2] F. Rustam et al., "White blood cell classification using texture and RGB features of oversampled microscopic images", *Healthcare*, vol. 10, n.º 11, pp. 2230, noviembre 2022.
Disponible: <https://doi.org/10.3390/healthcare10112230>
- [3] N. Salem, N. M. Sobhy y M. E. Dosoky, "A comparative study of white blood cells segmentation using Otsu threshold and watershed transformation", *J. Biomed. Eng. Med. Imag.*, vol. 3, n.º 3, junio de 2016.
Disponible: <https://doi.org/10.14738/jbemi.33.2078>
- [4] C. D. Ruberto, A. Loddo and G. Puglisi, "Blob Detection and Deep Learning for Leukemic Blood Image Analysis," Feb. 2020.
- [5] J. Yao, Z. Chen, and G. Huang, "Computer Microvision-Based Precision Motion Measurement: A Review," in *Optics in Precision Engineering and Nanotechnology VI*, X. Yang, X. Xiao, and G. Zhang, Eds., vol. 226, Springer, Singapore, 2019, pp. 21. doi: 10.1007/978-981-13-8161-4_21.
- [6] A. S. Bomback, R. J. Smith, G. R. Barile, Y. Zhang, E. C. Heher, L. Herlitz, M. B. Stokes, G. S. Markowitz, V. D. D'Agati, P. A. Canetta, J. Radhakrishnan, and G. B. Appel, "Eculizumab for dense deposit disease and C3 glomerulonephritis," *Clin J Am Soc Nephrol*, vol. 7, no. 7, pp. 748-756, Jul. 2012. Doi: 10.2215/CJN.11561111.
- [7] A. Vard, N. Ghane, A. Talebi y P. Nematollahy, "Segmentation of White Blood Cells from Microscopic Images Using a Novel Combination of K-Means Clustering and Modified Watershed Algorithm", *J. Med. Signals & Sensors*, vol. 7, n.º 2, pp. 92, 2017.
- [8] A. H. Alharbi, C. V. Aravinda, M. Lin, P. S. Venugopala, P. Reddicherla y M. A. Shah, "Segmentation and Classification of White Blood Cells Using the UNet", *Contrast Media & Mol. Imag.*, vol. 2022, p. 1–8, Julio de 2022.
- [9] K. Sudha y P. Geetha, "Leukocyte segmentation in peripheral blood images using a novel edge strength cue-based location detection method", *Med. & Biol. Eng. & Compute.*, vol. 58, n.º 9, p. 1995–2008, Junio de 2020.
- [10] C. Barata, M. E. Celebi, and J. S. Marques, "Improving dermoscopy image classification using color constancy," *IEEE J. Biomed. Heal. Informatics*, vol. 19, no. 3, pp. 1146–1152, 2014, <https://doi.org/10.1109/JBHI.2014.2336473>.
- [11] M. Makem y A. Tiedeu, "An efficient algorithm for detection of white blood cell nuclei using adaptive three stage PCA-based fusion", *Inform. Medicine Unlocked*, vol. 20, pp. 100416, 2020.
Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.imu.2020.100416>
- [12] V. Abrol, S. Dhalla, S. Gupta, S. Singh y A. Mittal, "An automated segmentation of leukocytes using modified watershed algorithm on peripheral blood smear images", *Wireless Pers. Common.*, mayo de 2023.
- [13] K. K. Anilkumar, V. J. Manoj y T. M. Sagi, "Efficacy of CIE L*A*B and cmyk color spaces in leukemia image analysis: A comparison by statistical techniques", *Biomed. Engineering: Applications, Basis Common.*, pp. 2150042, Julio de 2021.
Disponible: <https://doi.org/10.4015/s1016237221500423>
- [14] T. Lindeberg, "Feature detection with automatic scale selection," in *International Journal of Computer Vision*, vol. 30, no. 2, pp. 77-116, 1998.
- [15] A. Lucchi, K. Smith, R. Achanta, G. Knott, and P. Fua, "Supervoxel-based segmentation of mitochondria in EM image stacks with learned shape features," in *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 30, no. 2, pp. 166-180, 2010.