



## Desenvolvimento de um dispositivo automatizado para leitura do teste de suscetibilidade por disco-difusão de bactérias de importância clínica

B R Tondin<sup>1,2\*</sup>, P R S Sanches<sup>1</sup>, D P S Junior<sup>1</sup>, A F Muller<sup>1</sup>, P R O Thomé<sup>1</sup>, A L Barth<sup>1</sup>, P L Wink<sup>1</sup>,  
A S Martins<sup>1</sup>, A A Susin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

\*[btondin@hcpa.edu.br](mailto:btondin@hcpa.edu.br)

**Background, Motivation and Objective.** O antibiograma por disco-difusão é uma das técnicas mais utilizadas em laboratórios do Brasil e do mundo para a avaliação do perfil de sensibilidade antimicrobiana. Neste método, discos de papel de filtro impregnados com concentrações fixas de diferentes agentes antimicrobianos são colocados na superfície de placas com meio de cultura sólido previamente inoculado com uma suspensão padronizada de microrganismos. As placas são incubadas sob condições ótimas de crescimento, dependendo do microrganismo, e o diâmetro (em milímetros) da zona de inibição de crescimento ao redor de cada antimicrobiano é medido. Na Figura 1a pode-se visualizar uma placa de antibiograma com os halos formados. Em laboratórios que carecem de recursos financeiros para adquirir um equipamento comercial, esta medida é feita manualmente utilizando régua ou paquímetro, consumindo tempo e aumentando as chances de erro. Portanto, se mostra necessário desenvolver um sistema de medida automatizado que seja de baixo custo e facilmente replicável.

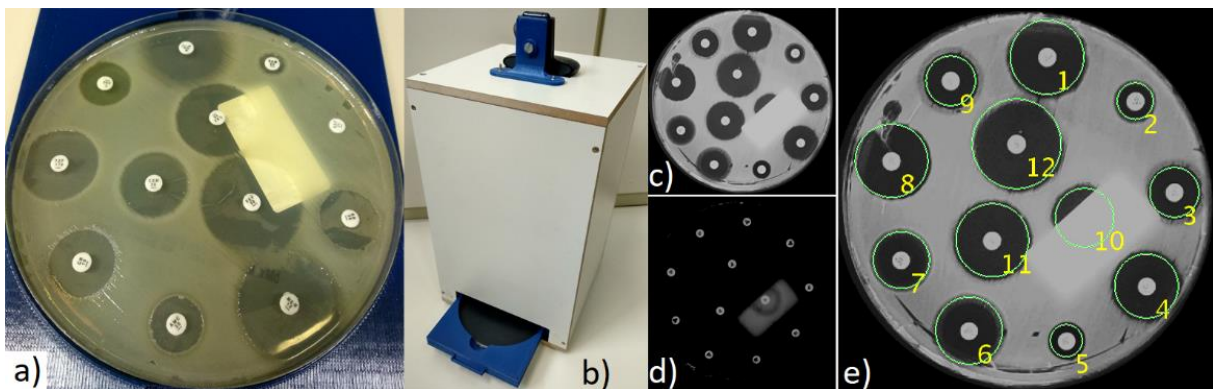
**Methods.** Foi desenvolvido um aparato para assegurar uniformidade nos parâmetros de aquisição de imagens das lâminas de Petri, em particular a iluminação e o posicionamento das placas. O equipamento foi construído utilizando chapas de MDF (medium-density fiberboard), plástico PLA (polylactic acid) para impressão 3D, uma fita de LED's brancos e uma câmera fotográfica Logitech® HD Pro C920. A Figura 1b apresenta uma fotografia da parte externa do equipamento onde se pode observar as partes "Câmera" e "Gaveta". Na parte superior do equipamento está instalada a câmera fotográfica que é conectada ao computador por uma conexão USB. A gaveta, na parte inferior, permite a inserção de uma placa de Petri. Assim, a posição relativa da placa e da câmera é constante. No interior da caixa do equipamento foram instalados LED's brancos de tal forma que a iluminação da placa seja uniforme por toda a superfície e de intensidade constante. São adquiridas duas imagens em sequência, uma com exposição alta (Figura 1c) e a outra com baixa exposição (Figura 1d). O algoritmo desenvolvido pré-processa a imagem adquirida pela câmera, convertendo-a para uma escala de cinza, melhorando seu contraste através da equalização de histograma e suavizando-a através de um filtro gaussiano. Utilizando o método da transformada de Hough na imagem em baixa exposição, são identificadas as posições centrais de cada halo. A partir de cada centro de halo localizado são tomados os valores de luminosidade ao longo de direções radiais (512 direções, neste caso). A média dos perfis de intensidade permite determinar o valor do raio do halo, que é o ponto de máximo gradiente. Para os testes estatísticos foram utilizadas 6 placas com 12 halos cada e o resultado do algoritmo foi comparado com o obtido através de medidas manuais e com o equipamento comercial Osiris® (este com correção das medições pelo operador). Na Figura 1e está exemplificada a localização e estimação dos halos de inibição em uma das placas.

**Results.** O algoritmo proposto identificou corretamente a posição dos centros dos 72 halos de inibição em 100% das vezes. De todos os halos avaliados apenas 2 obtiveram erros grosseiros de estimação, sendo ambos localizados sobre a etiqueta de identificação da placa, portanto desconsiderados no cálculo. A correlação obtida das medidas dos diâmetros dos halos entre o algoritmo proposto, o método manual e o Osiris® foi de 0,9862 e 0,9752, respectivamente.

**Discussion and Conclusions.** O equipamento desenvolvido mostrou resultados consistentes, tendo uma alta correlação com os métodos já utilizados. Nas etapas seguintes serão adicionados recursos de GUI (interface gráfica com o usuário) e cruzamento de dados com o BrCAST (Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility) para informar ao operador se a bactéria é sensível, pouco sensível ou resistente ao agente antimicrobiano. Através da GUI o operador poderá corrigir manualmente medidas visivelmente errôneas. A avaliação estatística será efetuada com uma maior quantidade de amostras, onde também será avaliado índice Kappa para concordância entre os três métodos quanto a sensibilidade do microrganismo. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Saúde do HCPA sob o número 170587.

#### **Figures and Tables.**

**Figura 1** – a) Fotografia de uma placa de antibiograma com os halos formatos ao redor dos discos com os agentes antimicrobianos. b) Aparato desenvolvido para aquisição das imagens. c) Imagem adquirida com alta exposição. d) Imagem adquirida com baixa exposição. e) Halos de inibição identificados nas imagens.



**Acknowledgment.** FINEP, FAPERGS, CNPq e FIPE/HCPA.

**Keywords.** Microbiologia, Antibiograma, Processamento de Imagem, Visão Computacional, Transformada de Hough.