

# Proyecto Fin de Carrera

## Ingeniería de Telecomunicación

Seguimiento de células en vídeos obtenidos mediante microscopio y la técnica de contraste de fase para la estimación del tiempo medio de paso entre estados celulares.

Autor: María García Valverde

Tutoras: Irene Fondón García y Auxiliadora Sarmiento Vega

**Dpto. Teoría de la Señal y Comunicaciones**  
**Escuela Técnica Superior de Ingeniería**  
**Universidad de Sevilla**

Sevilla, 2020





Proyecto Fin de Carrera  
Ingeniería de Telecomunicación

**Seguimiento de células en vídeos obtenidos  
mediante microscopio y la técnica de contraste de  
fase para la estimación del tiempo medio de paso  
entre estados celulares.**

Autor:

María García Valverde

Tutoras:

Irene Fondón García

Profesora Titular de Universidad

Auxiliadora Sarmiento Vega

Profesora Contratada Doctora

Dpto. de Teoría de la Señal y Comunicaciones

Escuela Técnica Superior de Ingeniería

Universidad de Sevilla

Sevilla, 2020



Proyecto Fin de Carrera: Seguimiento de células en vídeos obtenidos mediante microscopio y la técnica de contraste de fase para la estimación del tiempo medio de paso entre estados celulares.

Autor: María García Valverde

Tutoras: Irene Fondón García y Auxiliadora Sarmiento Vega.

El tribunal nombrado para juzgar el Proyecto arriba indicado, compuesto por los siguientes miembros:

Presidente:

Vocales:

Secretario:

Acuerdan otorgarle la calificación de:

Sevilla, 2020

El Secretario del Tribunal



*A mis abuelos*





# Agradecimientos

---

Después de dedicar la mayor parte de mis horas de vida a este proyecto en los últimos meses, hoy es el día. Ha sido un largo periodo de aprendizaje tanto a nivel profesional, personal, laboral como mental. Me gustaría agradecer a todas aquellas personas presentes a lo largo de mi vida estudiantil, han creído en mí, tanto en los momentos fáciles como en los más complicados.

En primer lugar, agradezco a mis compañeros de la carrera haberme apoyado y ayudado cuando más lo necesitaba. A mi familia por tener tanta paciencia a lo largo de estos años, especialmente en época de exámenes. Por último, darles las gracias a mis tutoras Irene Fondón García y Auxiliadora Sarmiento Vega que me han ayudado en este proceso. Es cierto, no ha sido nada fácil, ni mucho menos, pero gracias a ellos, ha parecido un tanto menos complejo. Me han ayudado a superarme, a cumplir expectativas siempre buscando la constante mejora, premisa que me seguiré aplicando a lo largo de mi vida profesional y personal.

*Sevilla, 2020*



# Resumen

---

El objetivo específico de este Trabajo Fin de Grado ha sido la implementación de tres métodos diferentes para el seguimiento de células en vídeos. Estos han sido obtenidos mediante microscopio con la técnica de contraste de fase. El objetivo general de la investigación en la que se enmarca este proyecto es la estimación del tiempo medio entre estados celulares, en base a vídeos de fibroblastos dérmicos .

El método seguido en una primera aproximación al problema se basaba, inicialmente, en la segmentación de las imágenes, utilizando métodos clásicos, con el fin de obtener la correcta ubicación de las células. A continuación, se llevaba a cabo el seguimiento de las células a lo largo del vídeo utilizando para ello un filtro de Kalman acondicionado.

Tras comprobar que los resultados no eran favorables para nuestra aplicación, se optó por implementar tres métodos diferentes para la extracción del fondo, con el fin de obtener un mejor resultado en el seguimiento y estimación del tiempo. Los métodos desarrollados para dicho fin están basados en:

- Transformada Wavelet.
- Filtro de Entropía.
- Combinación de Gradientes.

Por último, se ha calculado el tiempo medio entre estados celulares. El entorno de desarrollo ha sido Matlab, que nos permite implementar tanto métodos clásicos de procesamiento de imágenes como métodos de clasificación y seguimiento de objetos más novedosos.

Comenzaremos explicando todo el procedimiento del algoritmo desarrollado y posteriormente expondremos los resultados para visualizar su funcionamiento, así como ventajas e inconvenientes.



# Abstract

---

The aim of this project has been the implementation of three different methods for the tracking of cells in videos. These have been obtained by using microscope phase contrast technique. The general objective of the research in which the project is based is the estimation of the mean time between cellular states, based on a video of dermal fibroblasts.

In a first approach to the problem, the method followed was based on the segmentation of the images, using classical methods, in order to get the correct location of the cells.

Then, the cells were tracked throughout the video using a Kalman conditioning filter.

After verifying that the results were not favorable for our application, we chose to implement three different methods for bottom extraction, in order to obtain a better result in tracking and estimating time. The methods developed for this purpose are based on:

- Wavelet transformed.
- Entropy Filter.
- Combination of Gradients.

Finally, the average time between cellular states has been calculated. The development environment has been Matlab, which allows us to implement classic image processing methods and newer object classification and tracking methods.

We will start by explaining the entire procedure of the algorithm already developed and then we will present the results with the purpose to visualize its operation, as well as, considering the advantages and disadvantages.



# Índice

---

<b>Agradecimientos</b> .....	<b>ix</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>xi</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>xiii</b>
<b>Índice</b> .....	<b>xv</b>
<b>Índice de Tablas</b> .....	<b>xvii</b>
<b>Índice de Figuras</b> .....	<b>xviii</b>
<b>1 Introducción a la biología celular</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Componentes de una Célula</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Ciclo celular</b> .....	<b>2</b>
<b>1.3 Células Identificadas en el vídeo</b> .....	<b>3</b>
<b>1.4 Estados Celulares identificados en el video.</b> .....	<b>3</b>
<b>2 Microscopía celular</b> .....	<b>11</b>
<b>2.1 Técnicas de microscopía</b> .....	<b>11</b>
2.1.1 Modificación de la fuente emisora de luz .....	12
2.1.1.1 Microscopio de fluorescencia .....	12
2.1.1.2 Microscopio de luz ultravioleta .....	13
2.1.1.3 Microscopio confocal .....	13
2.1.2 Modificación de la forma en la que incide la luz.....	13
2.1.2.1 Microscopio de campo oscuro .....	14
2.1.2.2 Microscopio de luz polarizada .....	14
2.1.2.3 Microscopio de contraste por interferencia diferencial .....	14
2.1.2.4 Microscopio de contraste de fase .....	15
<b>3 Algoritmo implementado</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1 Preprocesamiento</b> .....	<b>18</b>
3.1.1 Método 1: Eliminación del fondo utilizando el Filtro de Entropía .....	18
3.1.2 Método 2: Eliminación de Fondo utilizando Combinación de Gradientes. ....	20
3.1.3 Método 3: Eliminación de Fondo utilizando la Transformada Wavelet.....	22
3.1.3.1 Familias de Funciones Wavelet .....	23
<b>3.2 Segmentación</b> .....	<b>25</b>

<b>3.3</b>	<b>Extracción de Características</b> .....	<b>27</b>
<b>3.4</b>	<b>Seguimiento</b> .....	<b>28</b>
3.4.1	Clasificación de Técnicas de Seguimiento .....	28
3.4.1.1	Técnicas de Seguimiento de siluetas .....	28
3.4.1.2	Técnicas de Seguimiento del núcleo .....	28
3.4.1.3	Técnicas de seguimiento de puntos .....	29
3.4.2	Filtro de Kalman .....	29
<b>3.5</b>	<b>Tiempo celular</b> .....	<b>31</b>
<b>4</b>	<b>Resultados</b> .....	<b>33</b>
4.1	Segmentación y extracción de características .....	33
4.2	Seguimiento de células .....	57
4.3	Tiempo de ciclo celular .....	61
<b>5</b>	<b>Conclusiones y líneas futuras</b> .....	<b>63</b>
	<b>Referencias</b> .....	<b>64</b>



# ÍNDICE DE TABLAS

---

Tabla 1 . Enfermedades Asociadas a la Desregulación de la Apoptosis [9].	3
Tabla 2 . Conjunto de cadenas válidas para la función <i>regionprops</i> [21].	27
Tabla 3.- Porcentaje de error en la segmentación	33
Tabla 4.- Centros detectados en el vídeo sin fondo (Método 1) tras segmentación.	41
Tabla 5.- Centros detectados en el vídeo sin fondo (Método 2) tras segmentación	49
Tabla 6.- Centros detectados en el vídeo sin fondo (Método 3) tras segmentación	56
Tabla 7.- Porcentaje de acierto en el número de células detectadas por <i>frame</i>	57
Tabla 8.- Número de células detectadas por <i>frame</i>	61
Tabla 9.- Tiempo de ciclo celular	62

# ÍNDICE DE FIGURAS

---

Figura 1-1. Estados Celulares [6]	2
Figura 1-2. Tipos de muerte celular [8]	3
Figura 1-3. Ejemplo Apoptosis en los <i>frames</i> 237, 241, 249 y 273 del vídeo.	4
Figura 1-4. Ejemplo Necrosis en los <i>frames</i> 210, 224, 233 y 260 del vídeo.	4
Figura 2-1. Muestra obtenida con microscopio de campo claro [12]	12
Figura 2-2. Microscopio de fluorescencia; (a) Funcionamiento, (b) Resultado [13]	13
Figura 2-3. Reconstrucciones 3D utilizando microscopía confocal [11]	13
Figura 2-4. Muestra obtenida con microscopio de campo oscuro [11]	14
Figura 2-5. Muestra obtenida con microscopio de contraste por interferencia diferencial. Nótese el aspecto tridimensional [11].	15
Figura 2-6. Célula sin coloración en la cual la parte con más espesor corresponde a la zona del núcleo C, el citoplasma a la zona delgada periférica B y el portaobjeto o solución acuosa circundante A. Existen diferentes índices de refracción entre A, B y C los cuales son invisibles al ojo humano. Las ondas que atraviesan una zona más espesa se retrasan y cambian de fase en relación a las ondas que atraviesan una región más delgada. El contraste de fases hace visible esas diferencias al traducirlas en cambios de intensidad [11].	15
Figura 2-7. Diagrama para el microscopio de contraste de fases. [11]	16
Figura 2-8. <i>Frame</i> 127 del vídeo	16
Figura 3-1. Etapas involucradas en el procesamiento de imágenes.	17
Figura 3-2. Esquema del desarrollo del algoritmo.	18
Figura 3-3. Eliminación del fondo utilizando el Filtro de Entropía: (a)ImagenOriginal; (b)ImagenFiltrada; (c)	

ImagenBinaria; (d) ImagenResultado	19
Figura 3-4. Diagrama método Filtro de Entropía	19
Figura 3-5. Eliminación de Fondo utilizando Combinación de Gradientes: (a) ImagenSuavizada; (b) ImagenCombinaciónGradientes; (c) ImagenBinaria; (d) ImagenResultado	20
Figura 3-6 Diagrama método Combinación de Gradientes	21
Figura 3-7. Wavelet Toolbox Matlab	22
Figura 3-8. Proceso de descomposición Wavelet [16].	22
Figura 3-9. Etapas de filtrado jerárquico del árbol de descomposición de la Transformada Wavelet [16].	23
Figura 3-10. Familias de Funciones Wavelet más usadas [16].	24
Figura 3-11. Eliminación del fondo utilizando Transformada Wavelet: (a)ImagenOriginal; (b) ImagenResultado	24
Figura 3-12. Segmentación del <i>frame</i> 100: (a)ImagenOriginal; (b) Imagen sin fondo método de la Entropía; (c) Conversión binaria; (d) Eliminación de objetos por área; (e) Operación morfológica de dilatado; (f) Eliminación de objetos por excentricidad	26
Figura 3-13. Extracción Características <i>Frame</i> 100: (a) Imagen sin fondo método de la Entropía; (b) Características de la Imagen sin fondo método de la Entropía	27
Figura 3-14. Clasificación de Técnicas de Seguimiento	28
Figura 3-15 Tiempo Celular	31
Figura 3-16 Esquema del procedimiento completo	32
Figura 4-1 Número de células detectadas por <i>frame</i>	57
Figura 4-2 Imágenes resultado utilizando el método de sustracción de fondo 2; (a) Frame 104, (b) Frame 105, (c) Frame 106, (d) Frame 107, (e) Frame 108, (f) Frame 109	58
Figura 4-3 Imágenes resultado utilizando el método de sustracción de fondo 3; (a) Frame 76, (b) Imagen 77, (c) Frame 85	59
Figura 4-4 Imágenes resultado utilizando el método de sustracción de fondo 1; (a) Frame 366, (b) Imagen 370, (c) Frame 375	60



# 1 INTRODUCCIÓN A LA BIOLOGÍA CELULAR

---

*Locura es hacer lo mismo una y otra vez esperando obtener resultados diferentes.*

*-Albert Einstein-*

La revolución tecnológica ha provocado grandes progresos en diferentes ámbitos de nuestra vida, especialmente, durante los últimos años han surgido grandes avances en medicina y en la prestación de servicios de atención médica. A modo de ejemplo, podemos hacer referencia al desarrollo de sistemas de atención sanitaria basados en la tecnología, capaces de proporcionar una amplia gama de diagnósticos efectivos y tratamientos terapéuticos [1].

Dentro de los múltiples campos de aplicación de las nuevas tecnologías en el progreso humano, haremos hincapié en la biología celular o bioquímica celular. Esta disciplina es la encargada del estudio de las células en lo que respecta a las propiedades, estructura, funciones, orgánulos, su interacción con el ambiente y su ciclo vital [2].

Los estudios realizados en esta rama de conocimiento, han aumentado considerablemente gracias al uso de herramientas avanzadas, ya que juegan un papel importante en la medicina regenerativa y enfermedades como el cáncer [3]. La invención del microscopio óptico permitió observar estructuras nunca vistas por el ser humano, las células. Gracias a los avances en microscopía, tema que trataremos en otro apartado, se consiguieron estudiar dichas estructuras con más detalle.

A continuación, explicaremos, de forma resumida, qué es una célula, cuáles son sus componentes, funciones y estados, con la finalidad de indicar cuál es el estado celular presentado en el vídeo utilizado para el desarrollo de este trabajo.

## 1.1 Componentes de una Célula

La célula es la unidad fundamental de los organismos vivos, de tamaño microscópico, capaz de reproducción independiente, formada por un citoplasma y un núcleo rodeados por una membrana.

Existen una gran variedad de células, por su complejidad se pueden dividir en:

- Célula procariota: No tienen núcleo, por ejemplo, las bacterias.
- Célula eucariota: Poseen núcleo, en el cual se encuentran el material genético, por ejemplo, los vegetales, animales y humanos. [4]

Todas las células eucariotas tienen tres estructuras básicas:

- Membrana plasmática: Es la cubierta que envuelve y delimita a la célula separándola del medio externo, permitiendo la entrada y salida de moléculas.

- Citoplasma: Región celular comprendida entre la membrana plasmática y el núcleo, que contiene una diversidad de orgánulos celulares que desempeñan diferentes funciones.
- Núcleo: Es la estructura más destacada de la célula eucariota, contiene la mayor parte del material genético celular. [5]

## 1.2 Ciclo celular

El ciclo celular es el conjunto de sucesos que ocurren durante el crecimiento de la célula, conocido como interfase y la división en células hijas, conocido como mitosis.

En la Figura 1, se muestran cuáles son las etapas del ciclo celular:

- Fase G1. Es el periodo que abarca desde que una célula nace hasta que comienza la siguiente fase. Durante ésta la célula comprueba las condiciones externas e internas y decide si continuar con el ciclo celular o no. Si hay correcta dotación de elementos celulares tras la división, una segregación correcta de los cromosomas, etcétera, la proliferación va a continuar, la célula crece de tamaño y se preparará para entrar en la fase “S”. La mayoría de las células de un organismo pluricelular adulto no se dividen constantemente, detienen su ciclo celular temporal o permanentemente en la fase G1. Detener el ciclo celular supone que la célula se va a diferenciar, o quedar quiescente, o sufrir un periodo de senescencia ,o morir por apoptosis o necrosis. [6]

Cuando la célula queda detenida en fase “G1” en forma quiescente se dice que está en la fase “G0”. Algunos tipos celulares pueden retomar el ciclo celular a partir de los estados de quiescencia y de célula diferenciada, y volver a la fase “G1”. [6]

- Fase S: Se producen dos sucesos importantes, la replicación del ADN y la duplicación de los centrosomas en las células animales.
- Fase G2: Se acumulan progresivamente aquellas moléculas cuyas actividades serán necesarias durante la siguiente fase “M”. Se consideran como un estado transitorio, en el que se determina si hubo errores durante la replicación del ADN o si se ha producido su duplicación completa. Si se dan errores la célula no entrará en fase “M” y el ciclo celular se detendrá hasta que los daños sean reparados o el ADN sea completamente copiado. [6]
- Fase M: Es la del ciclo celular donde se produce la división de una célula en dos hijas, conocido como mitosis. [6]

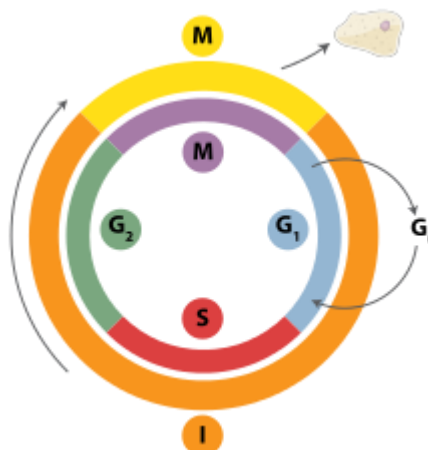


Figura 1-1. Estados Celulares [6]

### 1.3 Células Identificadas en el vídeo

El vídeo ha sido proporcionado por Paula Sampaio Neri, responsable del servicio de microscopía de la Universidad do Minho. El vídeo está compuesto por imágenes de fibroblastos en contraste de fase, consta de 875 *frames* y su duración es de 4,3750 segundos.

El fibroblasto es el tipo más abundante del tejido conectivo. Desempeñan multitud de funciones, la más conocida es la capacidad de sintetizar y mantener todos los precursores de los componentes de la matriz extracelular: fibras de colágeno, reticulares y elásticas. Otra función característica está relacionada con la organización estructural del tejido al que pertenecen. Por ejemplo, los fibroblastos dirigen la formación de la epidermis durante el desarrollo embrionario. También gracias a su capacidad de síntesis y mantenimiento de la matriz extracelular, intervienen activamente en la cicatrización de heridas. [7]

Esta versatilidad hace al fibroblasto una célula fácilmente manipulable en el laboratorio, es muy útil en investigación.

### 1.4 Estados Celulares identificados en el video.

Las células que aparecen en el vídeo, detienen el ciclo celular en la fase G1. La muerte de las células en los tejidos humanos y en otros organismos multicelulares, es un hecho normal, no implica la alteración de funciones.

Como se puede observar en la Figura 2, existen dos modos de muerte celular. Una es la que se produce como consecuencia de una lesión celular masiva conocida como necrosis, mientras que otras mueren a través de un mecanismo más refinado, no inflamatorio, dependiente de la energía celular, llamado apoptosis.

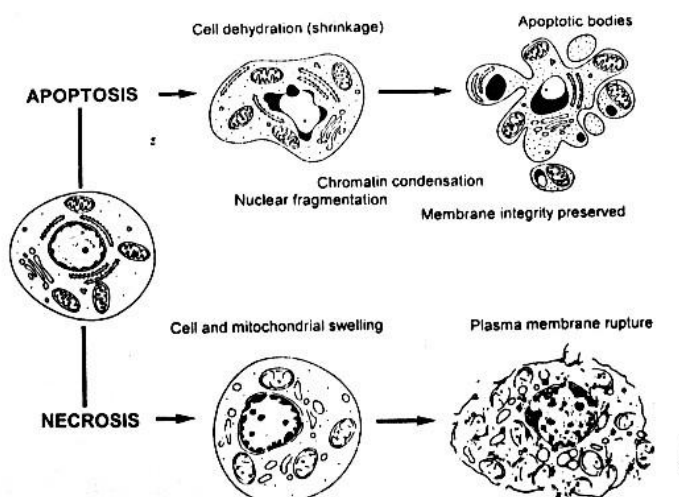


Figura 1-2. Tipos de muerte celular [8]

La apoptosis es un proceso genéticamente programado, que puede volverse dañino si no está controlado. La desregulación de la apoptosis está asociada a enfermedades como cáncer, neurodegeneración, autoinmunidad, miocardiopatías y otras alteraciones, como las que se muestran en la Tabla 1 [9].

Tabla 1 . Enfermedades Asociadas a la Desregulación de la Apoptosis [9].

Excesiva apoptosis	Deficiente apoptosis
Enfermedades degenerativas nerviosas (Parkinson, Alzheimer, Huntington)	Síndrome linfoproliferativo autoinmune  Enfermedad de Graves

Anemia aplástica	Linfoma
Tiroiditis de Hashimoto	Leucemia
Lupus eritematoso	Tumores sólidos
Esclerosis múltiple	Osteoporosis
Diabetes tipo I	Defectos de desarrollo
Colitis ulcerosa	
Defectos de desarrollo	

---

En la figura 2, se muestran los cambios celulares que se producen durante la apoptosis son una retracción o encogimiento de la célula, el citoplasma se vuelve más denso y los orgánulos más empaquetados. Posteriormente hay protrusiones y plegamientos de la membrana de modo que la célula se divide en porciones independientes denominados cuerpos apoptóticos, pero siempre rodeados de la membrana plasmática. [9]



Figura 1-3. Ejemplo Apoptosis en los *frames* 237, 241, 249 y 273 del vídeo.

Por otra parte, en la Figura 3 tenemos un ejemplo de necrosis, es una muerte celular debida a daños celulares producidos por agentes externos tales como la temperatura, presión, tóxicos.... La diferencia con la apoptosis es que la necrosis es un proceso descontrolado y pasivo que conlleva la rotura de membrana plasmática y liberación del contenido celular. [9]

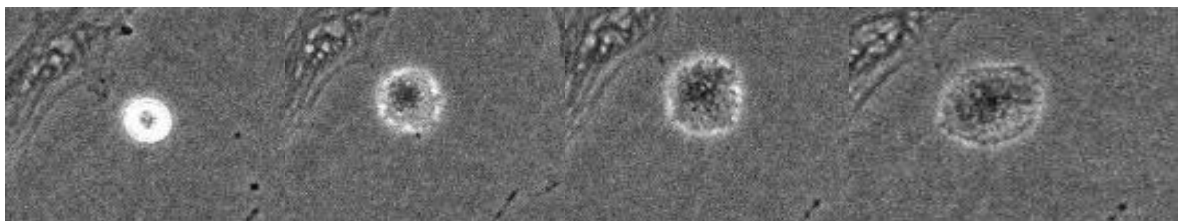


Figura 1-4. Ejemplo Necrosis en los *frames* 210, 224, 233 y 260 del vídeo.



## 2 MICROSCOPIA CELULAR

---

*La inspiración existe, pero tiene que encontrarte  
trabajando.*

*-Pablo Picasso-*

**S**e define la microscopía como el conjunto de técnicas y métodos destinados a hacer visibles los objetos de estudio que por su pequeñez están fuera del rango de resolución del ojo normal. En la medicina se usan la microscopía especialmente para analizar tejidos, células, componentes sanguíneos y microorganismos [10].

En esta sección se describen las técnicas de microscopía más comunes con el fin de caracterizar la utilizada para el desarrollo de este trabajo, para ello nos hemos basado en [11], [12] y [13].

### 2.1 Técnicas de microscopía

Las células son muy pequeñas y complejas, lo que dificulta la observación de su estructura y comprensión de su funcionamiento. Para optimizar el estudio es necesario tener en cuenta tres elementos:

- La muestra celular utilizada, que es el objeto de estudio.
- Fuente de iluminación.
- Sistema óptico.

Dependiendo de la composición de la muestra celular, células vivas o fijas, se definirán diferentes técnicas de visualización y tipos de instrumentos.

El microscopio de campo claro, también llamado microscopio común, utiliza la luz y un sistema de lentes para magnificar imágenes. Normalmente es necesario añadir algún tinte para distinguir especímenes debido a la transparencia de la muestra celular, Figura 2-1. Estos productos químicos dañan las células lo que supone un problema para analizar el comportamiento de células vivas.

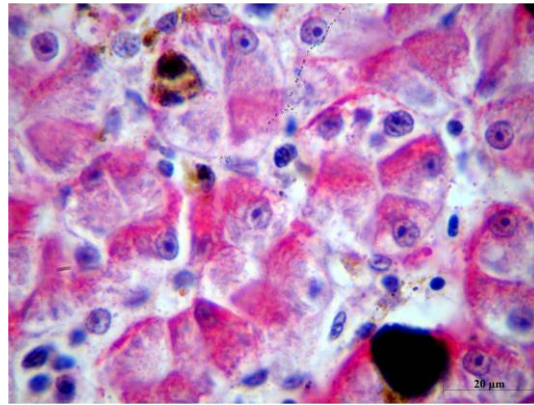


Figura 2-1. Muestra obtenida con microscopio de campo claro [12]

Puesto que el análisis de células vivas es necesario para estudiar su desarrollo, se produjo una larga investigación en búsqueda de métodos que pudiesen obtener imágenes de células vivas sin necesidad de colorantes y con mayor nitidez. En el microscopio convencional, se puede lograr una imagen en contraste de fase si se reduce la apertura del diafragma o se disminuye la cantidad de luz, pero lamentablemente también se reducen seriamente la resolución y la nitidez.

Se han diseñado técnicas microscópicas más complejas, capaces de incrementar el contraste sin afectar la resolución. Éstas permiten que los detalles que pasan desapercibidos se traduzcan en cambios de intensidades luminosas, las cuales sí pueden ser reconocidas por el ojo humano. Existen dos principios básicos en los que se sustentan estas técnicas; la modificación de la fuente emisora de luz o la modificación de la forma en la que incide la luz sobre el espécimen.

### 2.1.1 Modificación de la fuente emisora de luz

Esta técnica se basa en cambiar la luz blanca por luz ultravioleta o rayos láser, es utilizada en los microscopios de fluorescencia, confocal y luz ultra-violeta.

#### 2.1.1.1 Microscopio de fluorescencia

La fluorescencia es la propiedad que tienen ciertos elementos químicos de emitir luz visible cuando sobre ellos incide una radiación intensa; en otras palabras, absorben luz de una longitud de onda determinada y luego emiten otra luz de una mayor longitud de onda. Para lograrlo, se utilizan fluorocromos que son marcadores fluorescentes que se aplican a la muestra para que reaccione ante la recepción de una determinada longitud de onda.

Para comenzar, se necesita una intensa fuente de luz (lámpara de mercurio), que excite la fluorescencia en el espectro específico, teniendo en cuenta que las células vivas pueden ser dañadas por la intensa radiación. Posteriormente se coloca un filtro, que permita el paso de luz de una determinada longitud de onda, y por último un objetivo de gran capacidad para transmitir la luz y proveer una imagen de alta calidad, Figura 2-2 (a). Los colores se desvanecen poco a poco por lo que hay que fotografiarlo en seguida, Figura 2-2 (b).

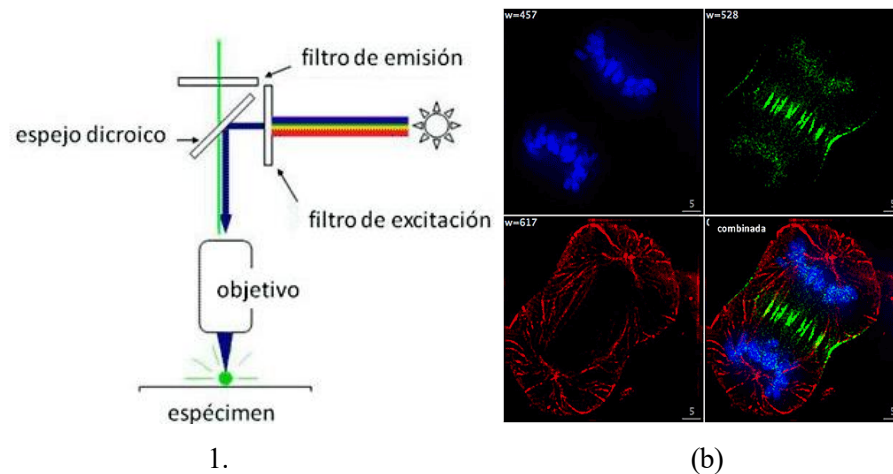


Figura 2-2. Microscopio de fluorescencia; (a) Funcionamiento, (b) Resultado [13]

### 2.1.1.2 Microscopio de luz ultravioleta

La estructura del microscopio es básicamente igual a la del microscopio de fluorescencia y las imágenes obtenidas son semejantes (muestran las estructuras brillantes contrastando con un fondo negro). La diferencia entre ambas técnicas reside en el rango de luz emitido, en este caso es el ultravioleta que es invisible al ojo humano al poseer una longitud de onda aproximadamente de 200nm. La luz ultravioleta es muy nociva y por ello la imagen no se observa directamente, debe visualizarse mediante una fotografía o un sensor digital.

### 2.1.1.3 Microscopio confocal

Para la microscopía clásica, el tejido debe cortarse finamente para ser examinado ya que cuanto más delgado sea, más nítida será la imagen, aunque se pierde la información tridimensional durante el corte. Si se utiliza una muestra gruesa la imagen se ve contaminada por la superposición de los elementos del tejido. Con el microscopio confocal estas limitaciones han sido superadas, ya que permite realizar cortes ópticos finos a muestras de tejidos más o menos gruesos enfocando un solo plano y reconstruir la imagen hasta ser casi tridimensional, Figura 2-3. La fuente de energía es un rayo láser y utiliza la técnica de fluorescencia para visualizar especímenes. Tiene mucho éxito en el mundo científico gracias a la alta calidad de las imágenes que proporciona.

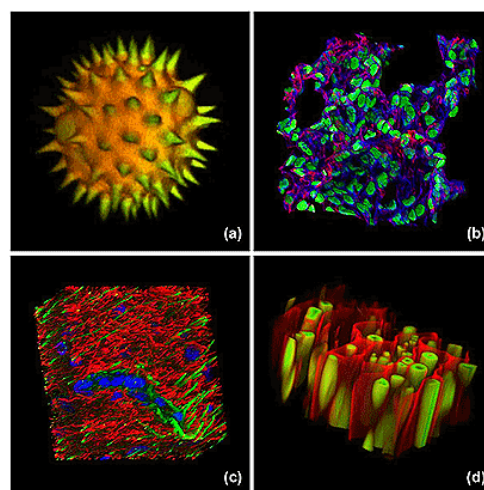


Figura 2-3. Reconstrucciones 3D utilizando microscopía confocal [11]

### 2.1.2 Modificación de la forma en la que incide la luz

Esta técnica emplea condensadores y filtros. La utilizan los microscopios de campo oscuro, de luz polarizada, de contraste por interferencia diferencial y de contraste de fase.

### 2.1.2.1 Microscopio de campo oscuro

Se coloca un condensador debajo de la muestra que desvía los rayos hacia los extremos, y al pasar por el filtro se eliminan los centrales, formando un cono de luz con mayor apertura que la del objetivo. Solo deja pasar aquellos rayos que han sido defractados debido al espesor de la muestra, el resto será negro. El resultado es una imagen con detalles claros sobre un fondo oscuro como se indica en la figura 2-4.

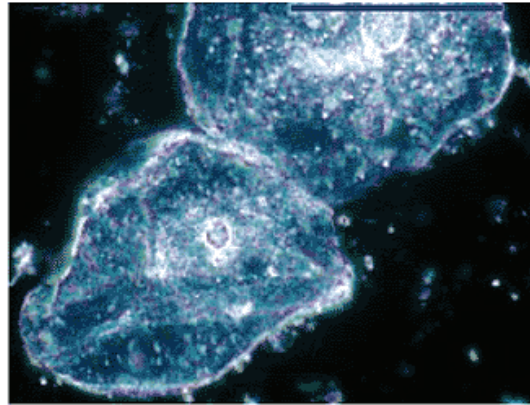


Figura 2-4. Muestra obtenida con microscopio de campo oscuro [11]

### 2.1.2.2 Microscopio de luz polarizada

Es un microscopio de campo claro con dos filtros polarizadores que modifican la dirección de propagación de la luz. El primer polarizador se coloca entre el condensador y la muestra y el otro, llamado analizador, entre la muestra y el observador.

La luz, que proviene de una fuente de iluminación, se propaga en todas las direcciones, pero al pasar por un filtro polarizador, las ondas y su campo eléctrico oscilan todos en un mismo plano. Si ambos polarizadores se cruzan ( $90^\circ$  entre sí), no se ve nada. Esto permite determinar el comportamiento del espécimen (isótropo o anisótropo) a través de su estructura interna. En el caso de los isótropos, la estructura interna es regular, esto es, los átomos se encuentran uniformemente distribuidos en las tres dimensiones y la velocidad es la misma en todas las direcciones, por ello, sus propiedades no sufren variaciones al atravesar el filtro.

Sin embargo, aquellos materiales con distribución asimétrica –anisótropos–, varían según la dirección de propagación y el comportamiento de las ondas será diferente.

Es muy utilizado en el estudio de minerales; sin embargo, en biología su principal utilidad consiste en distinguir las sustancias isotrópicas de las anisótropicas, aportando información sobre la estructura y composición de los materiales con la finalidad de caracterizarlos para fines diagnósticos.

### 2.1.2.3 Microscopio de contraste por interferencia diferencial

Ideal para visualizar especímenes no coloreados y transparentes. Permite obtener información sobre la densidad óptica de la muestra y observar detalles que suelen ser invisibles.

Los objetos se ven oscuros o claros en un fondo gris, de manera semejante a las imágenes del microscopio de contraste de fases, pero sin halos de difracción.

Utiliza luz polarizada y dos prismas, situados antes de la muestra, que dividen el haz de luz en dos rayos con índices de refracción diferentes originando una imagen con sensación de profundidad, parecida a una imagen 3D, Figura 2-5.

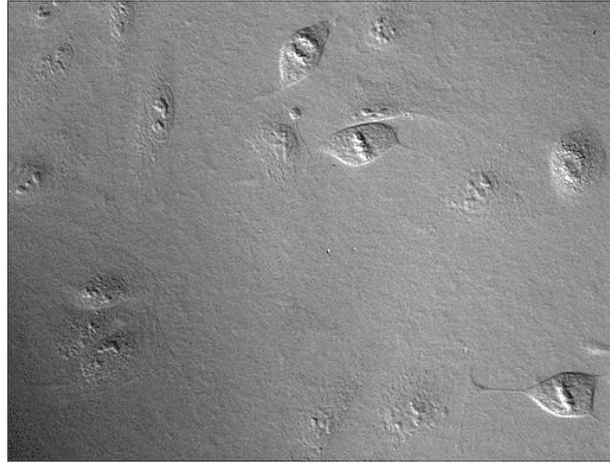


Figura 2-5. Muestra obtenida con microscopio de contraste por interferencia diferencial. Nótese el aspecto tridimensional [11].

#### 2.1.2.4 Microscopio de contraste de fase

Este descubrimiento revolucionó la investigación en biomedicina al permitir el estudio de células vivas. Con esta técnica de iluminación se aumenta el contraste de manera notoria entre las partes claras y oscuras de las células transparentes.

El principio es semejante al de campo oscuro; se ilumina la muestra con un cono hueco de luz pero mucho más estrecho. Se emplea un filtro en forma de anillo que disminuye la intensidad de la luz y al mismo tiempo provoca un retraso o desfase en la longitud de onda de la luz. Este método induce variaciones sutiles en el índice de refracción (determinado por el espesor) de los especímenes translúcidos permitiendo visualizar una riqueza de detalles muy finos en la estructura, los cuales pasarían desapercibidos con una iluminación de campo claro.

Los componentes celulares absorben la luz de diferente manera y causan pequeñas variaciones de fase en las radiaciones luminosas, es decir, las retrasan ligeramente al disminuir la velocidad a la cual viajan y el retraso varía según el tipo de estructura. En las células y tejidos no coloreados, el escaso contraste se mejora y acentúa al transformar las diferencias de fase (invisibles al ojo humano) en diferencias de intensidad luminosa las cuales sí son detectables.

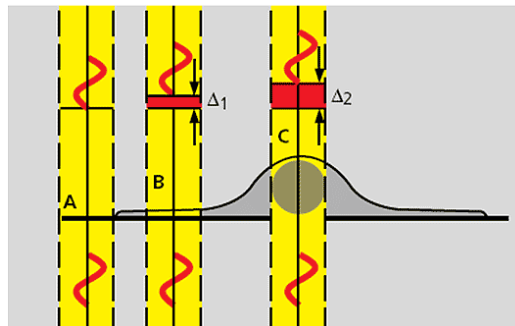


Figura 2-6. Célula sin coloración en la cual la parte con más espesor corresponde a la zona del núcleo C, el citoplasma a la zona delgada periférica B y el portaobjeto o solución acuosa circundante A. Existen diferentes índices de refracción entre A, B y C los cuales son invisibles al ojo humano. Las ondas que atraviesan una zona más espesa se retrasan y cambian de fase en relación a las ondas que atraviesan una región más delgada. El contraste de fases hace visible esas diferencias al traducirlas en cambios de intensidad [11].

Para convertir un microscopio convencional en uno de contraste de fases se sustituye el condensador y el objetivo por los de contraste de fases, los cuales contienen un filtro en anillo y una placa de fases respectivamente, Figura 2-7.

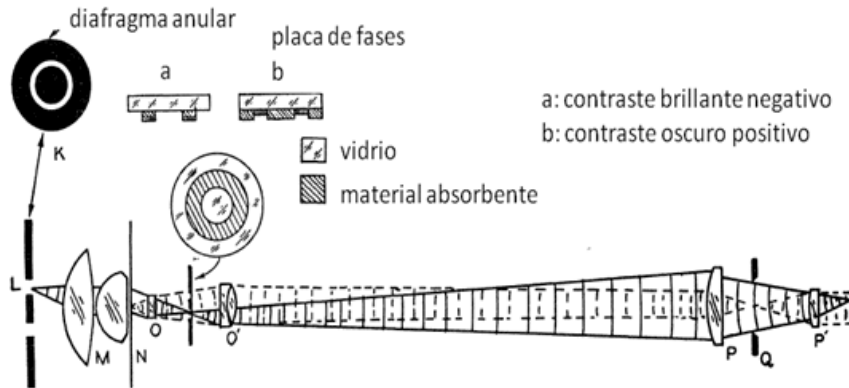


Figura 2-7. Diagrama para el microscopio de contraste de fases. [11]

Mostramos un recorte de una de las imágenes del video, Figura 2-8, como ejemplo del resultado que proporciona el microscopio de contraste de fase. Que permite visualizar células en vivo sin necesidad de utilizar ningún tipo de tinción evitando así la pérdida de elementos estructurales.

La técnica empleada ha sido la de contraste de fase positivo ya que los núcleos son oscuros mientras que los bordes son claros. Como inconveniente de este método, podemos mencionar que la mejora del contraste tiene efectos negativos como la producción de brillo adicional alrededor de los objetos, lo que puede llegar a causar confusión en la segmentación de la imagen.

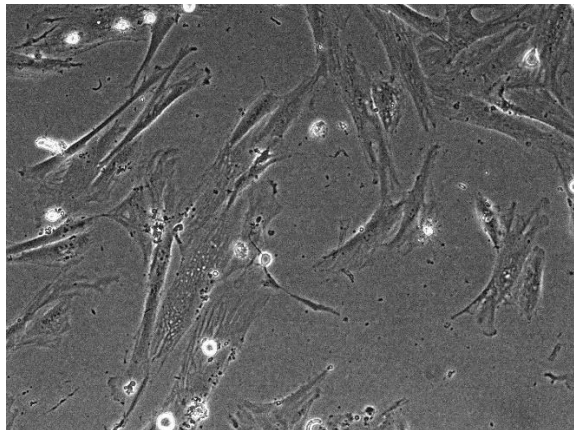


Figura 2-8. *Frame 127* del vídeo

## 3 ALGORITMO IMPLEMENTADO

*Todo el mundo debería aprender a programar, porque te enseña a pensar.*

*-Steve Jobs-*

El procesamiento digital de imágenes es el conjunto de técnicas que se aplican a las imágenes digitales con el objetivo de mejorar su calidad o facilitar la búsqueda de información. Como hemos indicado en el capítulo anterior en este trabajo utilizaremos imágenes en escala de grises, por lo que estaremos haciendo referencia a una matriz bidimensional.

Para el desarrollo de este capítulo hemos recopilado información de [14].

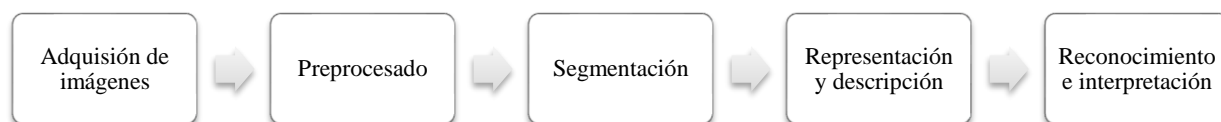


Figura 3-1. Etapas involucradas en el procesamiento de imágenes.

Como se observa en la figura 3-1, los pasos fundamentales en el tratamiento de imágenes son:

1. Adquisición de imágenes.

Las diferentes técnicas de adquisición imágenes microscópicas se han descrito en el capítulo anterior.

2. Preprocesamiento.

El preprocesado de imágenes consiste en el conjunto de técnicas que buscan mejorar la apariencia visual de una imagen a una forma más adecuada para el observador humano o análisis artificial.

No hay una teoría unificada para el preprocesado hasta el presente porque no hay un estándar de la calidad de la imagen que puede servir como criterio de diseño para el proceso. Se incluyen técnicas de eliminación de ruidos y realce de detalles.

3. Segmentación.

El propósito de la segmentación es realizar una partición de la imagen en regiones significativas. Los resultados de la misma serán utilizados en etapas sucesivas para su descripción, reconocimiento e interpretación. Esta etapa determinará el éxito o fracaso del análisis.



#### 4. Representación y descripción.

A la salida del proceso anterior habitualmente se tienen los datos de píxel en bruto, que constituyen bien el contorno de una región o bien todos los puntos de una región determinada.

Consiste en extraer rasgos con alguna información cuantitativa de interés o que sean fundamentales para diferenciar una clase de objetos de otra.

#### 5. Reconocimiento e interpretación.

El reconocimiento es el proceso que asigna una etiqueta a un objeto basándose en la información proporcionada por sus descriptores.

Durante el desarrollo de nuestro algoritmo hemos seguido los pasos clásicos mencionados en el capítulo 3 sobre el procesamiento de imágenes digitales.

Primero, se realiza el preprocesado que se basa en la eliminación del fondo de cada imagen. Para ello se han desarrollado tres métodos diferentes con el fin de obtener un mejor resultado en el seguimiento y estimación del tiempo. Los métodos desarrollados para dicho fin están basados en:

- Transformada Wavelet.
- Filtro de Entropía.
- Combinación de Gradientes.

Segundo, se realiza la segmentación de las células de cada imagen a través de operaciones comunes para todos los *frames* preprocesados obtenidos del apartado anterior. Esto nos permitirá obtener información de la ubicación de cada célula que es esencial para el seguimiento.

A continuación, se extraen las características más relevantes para el desarrollo un método de seguimiento de cada una de las células a lo largo del vídeo.

Finalmente, tras el seguimiento de las células se calcula el tiempo de ciclo celular con el fin de realizar una comparación entre los métodos utilizados.

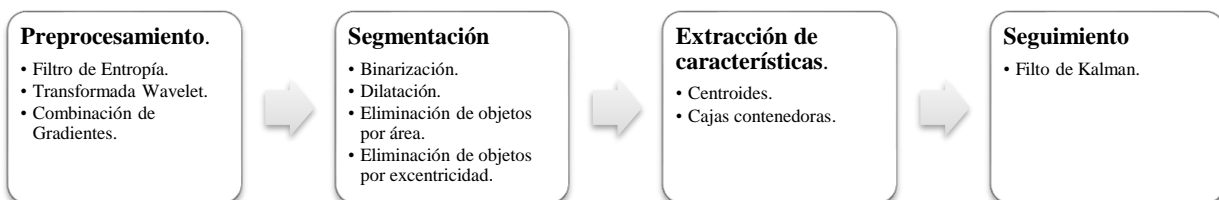


Figura 3-2. Esquema del desarrollo del algoritmo.

## 3.1 Preprocesamiento

El principal objetivo es procesar una imagen de forma que resulte más adecuada que la original para una aplicación específica. Como hemos comentado en apartados anteriores, en una primera instancia los resultados en el seguimiento y estimación del tiempo no eran favorables para nuestra aplicación, por lo que optamos por someter a los vídeos a diferentes preprocesamientos basados en la extracción del fondo. Para los siguientes apartados vamos a presentar el resultado de los diferentes métodos aplicados en el *frame* 1 del vídeo.

### 3.1.1 Método 1: Eliminación del fondo utilizando el Filtro de Entropía

El Toolbox de Procesamiento de Imágenes de Matlab incluye varias funciones de análisis de textura que permite filtrar una imagen utilizando medidas estadísticas como el rango, desviación estándar y la entropía, que es una medida estadística de aleatoriedad. Estas estadísticas logran caracterizar la textura de una imagen al proporcionar



información sobre la variabilidad local de los valores de intensidad de los píxeles de una imagen.

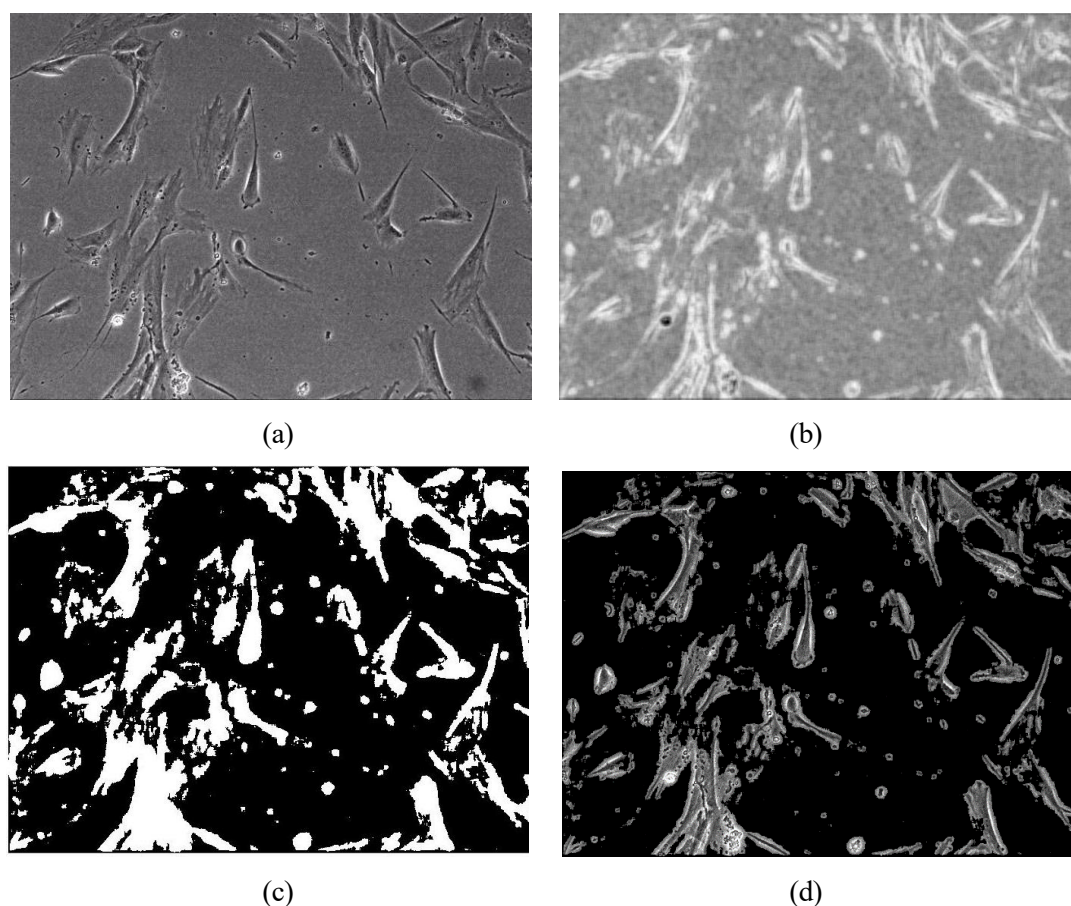


Figura 3-3. Eliminación del fondo utilizando el Filtro de Entropía: (a)ImagenOriginal; (b)ImagenFiltrada; (c) ImagenBinaria; (d) ImagenResultado

En el paso 1 de la figura 3-4, se ha utilizado la función predefinida `entropyfilt()` la cual define una vecindad alrededor del píxel de interés y calcula la entropía para esa vecindad.

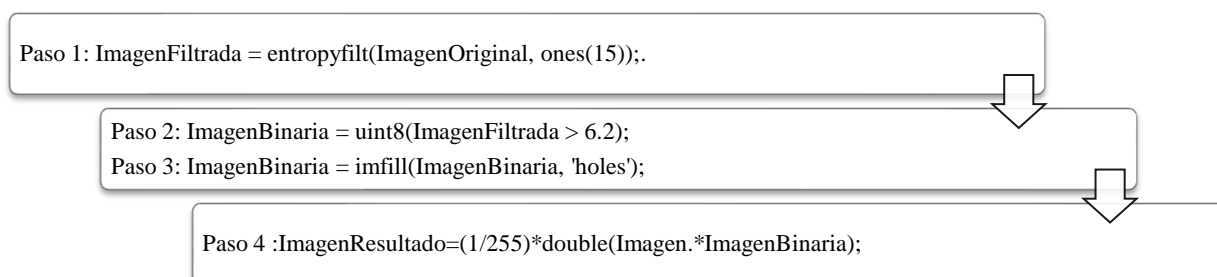


Figura 3-4. Diagrama método Filtro de Entropía

Sea  $h(i)$  el histograma, que es el número de ocurrencias del nivel de gris  $i$  en la imagen y  $p(i)$  la función de probabilidad muestral, definida como el cociente del histograma y la dimensión de la imagen. Siendo  $I$  el número total de grises,  $M$  el número total de filas y  $N$  de columnas, la entropía viene dada por:

$$p(i) = \frac{h(i)}{M \cdot N} \quad (3.1.1-1)$$

$$\text{Entropía} = - \sum_0^{I-1} p(i) \cdot \log(p(i)) \quad (3.1.1-2)$$

Una vez generada la Imagen de Filtrada, el objetivo es obtener una máscara para la textura del fondo. El umbral elegido es el valor de intensidad de los píxeles a lo largo del límite entre las texturas, como se indica en el paso 2. Al no estar conectadas todas las regiones de la máscara, para el paso 3 se utiliza la función `imfill()` para rellenar los huecos generados.

Por último, se aplica la plantilla a la imagen original para conseguir la imagen sin fondo Figura 3.3 (d). Este procedimiento se aplica en todo los *frames* del vídeo. Veremos en apartados posteriores cómo influye en el seguimiento la información celular seleccionada por este método.

### 3.1.2 Método 2: Eliminación de Fondo utilizando Combinación de Gradientes.

Los bordes de una imagen se pueden definir como transiciones entre dos regiones de niveles de gris significativamente distintos, muestran información sobre las fronteras de los objetos y puede ser utilizada para segmentar la información útil de la imagen.

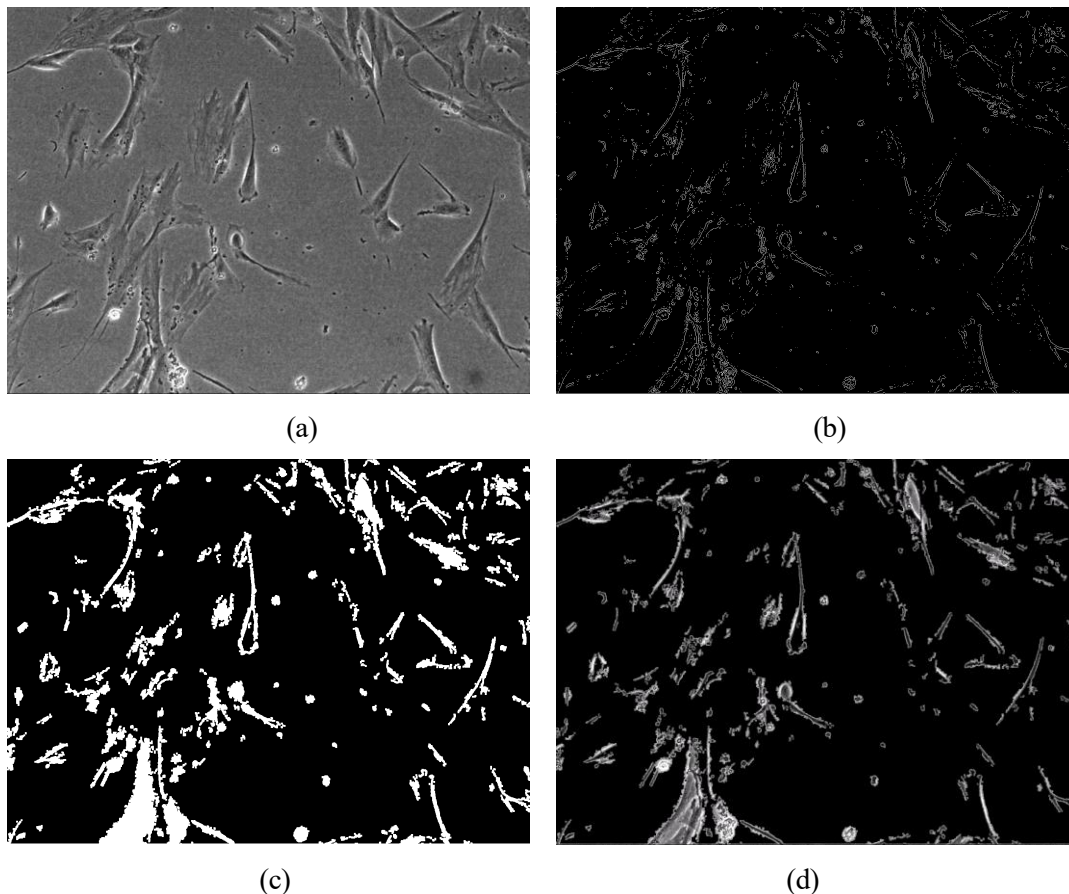


Figura 3-5. Eliminación de Fondo utilizando Combinación de Gradientes: (a) ImagenSuavizada; (b) ImagenCombinaciónGradientes; (c) ImagenBinaria; (d) ImagenResultado

El ruido de los *frames* es aleatorio, para homogeneizar la imagen se ha utilizado el filtro de la mediana. Los píxeles de la nueva imagen se generan calculando la mediana del conjunto de píxeles del entorno de vecindad del píxel correspondiente. Como se puede observar en la Figura 3-6 (a), conseguimos homogeneizar los píxeles

de intensidad muy diferente.

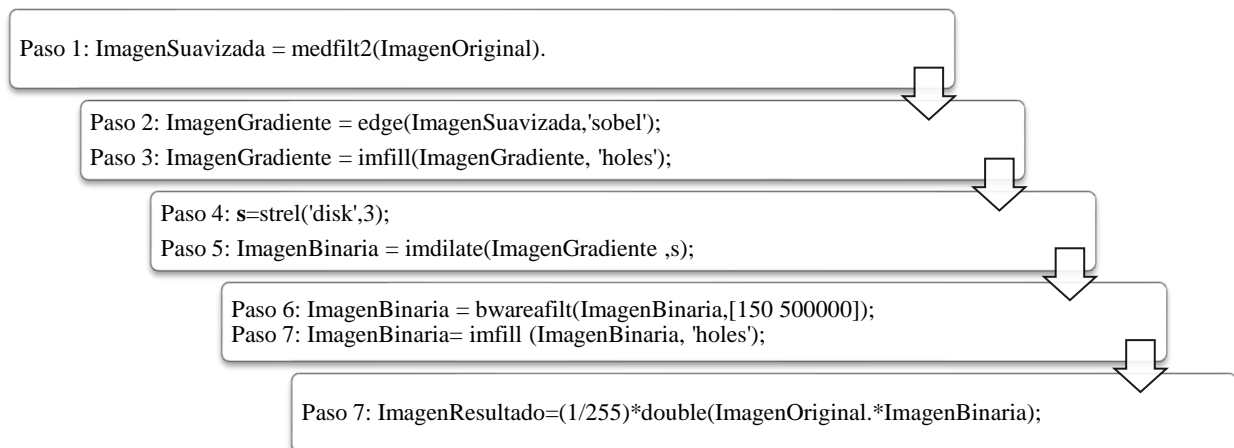


Figura 3-6 Diagrama método Combinación de Gradientes

En el paso 1 de la figura 3-5 se ha utilizado la función de Matlab `Medfilt2()`, a la imagen de entrada se le aplica el filtro con una vecindad 3X3 por defecto.

Una vez obtenida la imagen suavizada, procedemos al cálculo de gradientes. La derivada de una señal continua proporciona las variaciones locales con respecto a la variable, de forma que el valor de la derivada es mayor cuanto más rápidas sean estas variaciones.

En el caso bidimensional discreto, las distintas aproximaciones del operador gradiente se basan en diferencias entre los niveles de grises de la imagen. La derivada parcial  $f_x(x,y)$  puede aproximarse por la diferencia de píxeles adyacentes de la misma fila, igual para la derivada parcial  $f_y(x,y)$  respecto a los píxeles de la misma columna [15].

El gradiente de cada fila y columna se obtiene mediante la convolución de la imagen con unas determinadas máscaras. Los operadores más utilizados son los de Roberts, Prewitt, Sobel y Frei-chen.

La máscara elegida ha sido la de Sobel. Siendo  $I$  la imagen suavizada, se definen los gradientes:

$$G_x = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -2 & 0 & 2 \\ -1 & 0 & 1 \end{pmatrix} * I \quad G_y = \begin{pmatrix} -1 & -2 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & 1 \end{pmatrix} * I \quad (3.1.2-1)$$

En cada punto de la imagen se combinan los resultados anteriores para obtener la magnitud del gradiente mediante la siguiente ecuación, paso 2 figura 3-5:

$$G = \sqrt{G_x^2 + G_y^2} \quad (3.1.2-2)$$

El resultado de la operación es una imagen binaria del mismo tamaño que la imagen original en la cual, “1” significa que ha detectado un borde y “0” es que no lo ha detectado.

No se obtienen secciones diferenciadas, se realizan una serie de operaciones morfológicas para mejorar el resultado, utilizando las funciones `imfill()`, `imdilate()` y `bwareafilt()`; se puede observar el resultado en la Figura 3.6 (c).

Por último, se aplica la plantilla a la imagen original para conseguir la imagen sin fondo Figura 3.6 (d). Este procedimiento se aplica en todo los *frames* del vídeo. Veremos en apartados posteriores cómo influye en el seguimiento la información celular seleccionada por este método.

### 3.1.3 Método 3: Eliminación de Fondo utilizando la Transformada Wavelet.

Las wavelets se caracterizan por ser una herramienta útil para afrontar problemas fundamentales en el tratamiento de imágenes. Entre ellos la reducción del ruido, la compresión o la detección de determinados objetos en cierto tipo de imágenes.

Wavelet Toolbox de Matlab proporciona funciones y aplicaciones para analizar y sintetizar señales e imágenes, para nuestro propósito se ha utilizado la aplicación basada en la Transformada Wavelet Discreta (DWT) destinada al tratamiento de imágenes. Para el desarrollo de este apartado hemos recopilado información de [16].

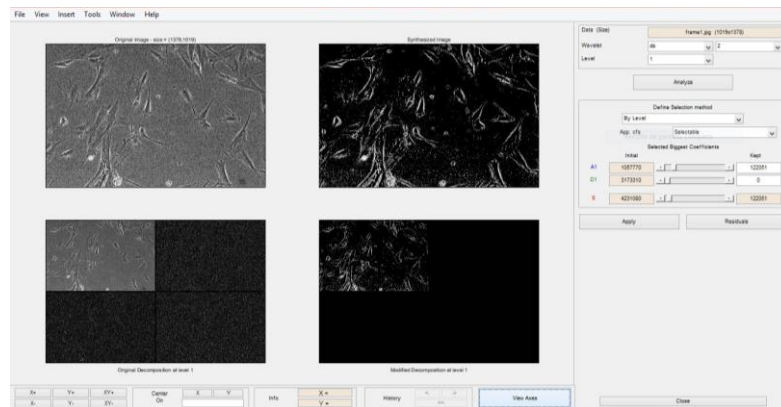


Figura 3-7. Wavelet Toolbox Matlab

La Transformada permite aplicar diferente interés en los contenidos de alta y baja frecuencia de las señales. Por lo que, los coeficientes Wavelet resultantes de la descomposición podrán clasificarse, tal y como se muestra en la figura 3-8, en:

- Coeficientes de detalle (alta frecuencia).
- Coeficientes de aproximación (baja frecuencia).

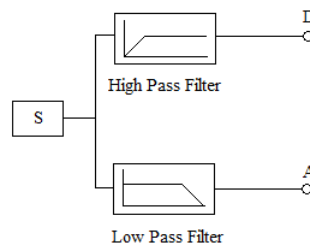


Figura 3-8. Proceso de descomposición Wavelet [16].

Se implementa mediante un árbol jerárquico de filtrado, organizado en etapas denominadas “niveles de descomposición”. Cada etapa consta a su vez de dos fases: un filtrado de alta frecuencia y otro de baja frecuencia. De cada uno de ellos tras un diezmado, se obtienen los coeficientes de detalle y los de aproximación respectivamente. El diezmado consiste en descartar una de cada dos muestras, escogiendo muestras intercaladas.

Se implementa mediante un árbol jerárquico de filtrado, organizado en etapas denominadas “niveles de descomposición”. Cada etapa consta a su vez de dos fases: un filtrado de alta frecuencia y otro de baja frecuencia. De cada uno de ellos tras un diezmado, se obtienen los coeficientes de detalle y los de aproximación respectivamente. El diezmado consiste en descartar una de cada dos muestras, escogiendo muestras intercaladas.

El árbol se compone pasando a la siguiente etapa los coeficientes de aproximación obtenidos, y así sucesivamente, como se observa en la siguiente figura.

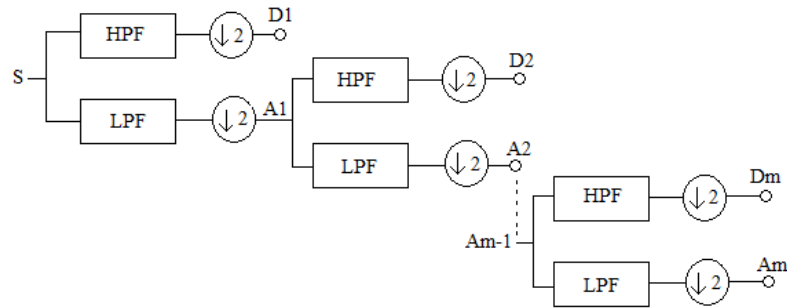


Figura 3-9. Etapas de filtrado jerárquico del árbol de descomposición de la Transformada Wavelet [16].

A la salida  $i$  de cada etapa  $i$  se obtienen los coeficientes de aproximación,  $A_i$ , y los coeficientes de detalle,  $D_i$ . La entrada de la siguiente etapa ( $i + 1$ ) son los coeficientes de aproximación de la etapa anterior,  $A_i$ . Todos los coeficientes, se almacenan en el vector de coeficientes de la siguiente manera:

$$\text{Vector de Coeficientes} = [A_M, D_M, D_{M-1}, \dots, D_3, D_2, D_1] \quad (3.1.3-1)$$

A partir de la información contenida en los coeficientes Wavelet, se puede llevar a cabo la reconstrucción de la señal original mediante un procesamiento con una estructura de filtros de espectro en cuadratura.

### 3.1.3.1 Familias de Funciones Wavelet

La transformada Wavelet se basa en una función, que se escogerá de entre múltiples opciones denominada función Wavelet madre, la señal se descompondrá en base a esta función. Las funciones Wavelet se distribuyen en familias, que comparten ciertas características, y la correcta elección de la función condicionará la correcta u óptima transformación [17].

No se puede afirmar que exista una función Wavelet óptima, sino que en cada caso particular, existirá una función Wavelet mejor adaptada a la señal de interés [18]. Algunas de las familias de funciones más usadas son:

- Haar: Se caracteriza por ser simétrica de duración finita, es ortogonal y su implementación sencilla. La discontinuidad de las onduletas Haar, representada en la Figura 3-10 (a), presenta una desventaja para su aplicación.
- Daubechies: A diferencia de la anterior, es asimétrica (salvo la Daubechies de primer grado, que coincide con Haar) y tiene duración finita de longitud  $2N - 1$  (siendo  $N$  el orden).
- Sombrero Mexicano: Es simétrica, tiene duración infinita y no es ortogonal. Pertenece a la familia de wavelets de Gauss, creada a partir de las derivadas de la función de densidad de probabilidad de la distribución de Gauss, Figura 3-10 (c).
- Morlet: Es simétrica, compleja, tiene duración infinita y no es ortogonal.
- Meyer: Es simétrica, tiene duración infinita y es ortogonal.

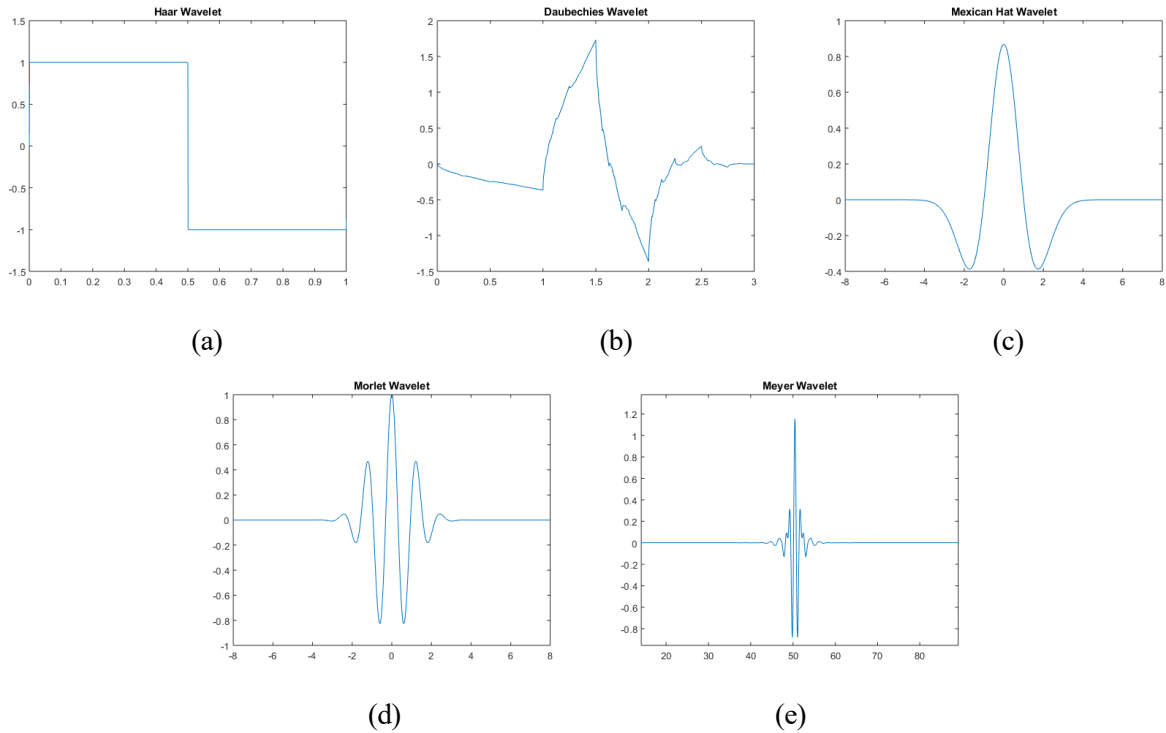


Figura 3-10. Familias de Funciones Wavelet más usadas [16].

En nuestro caso, nos queremos quedar con los detalles de los *frames* que se corresponden con las células. Utilizando la herramienta comentada en este apartado se han probado diferentes funciones wavelet junto a la modificación de los coeficientes de alta y baja frecuencia. El mejor resultado, que se muestra en la figura 3-11, se ha obtenido gracias a la función de Daubichies nivel 2, sin modificar los coeficientes de alta frecuencia y sí los de baja, para conseguir eliminar el fondo. Este procedimiento se aplica en todo los *frames* del vídeo. Veremos en apartados posteriores cómo influye en el seguimiento la información celular seleccionada por este método.

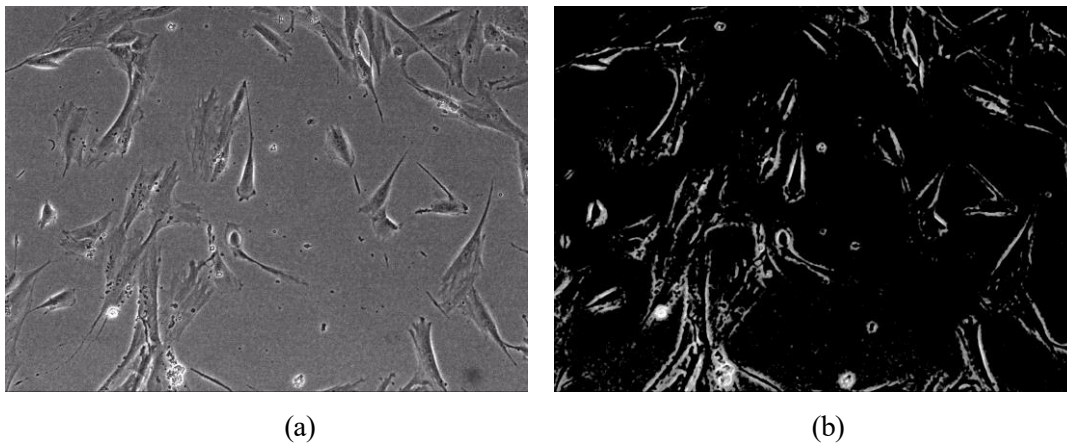


Figura 3-11. Eliminación del fondo utilizando Transformada Wavelet: (a) ImagenOriginal; (b) ImagenResultado



## 3.2 Segmentación

En este proceso se inicia un análisis de la imagen para dividirla en sus partes constituyentes u objetos dependiendo de la aplicación a desarrollar [19]. Se ha realizado la segmentación de las células de cada imagen a través de operaciones comunes para todos los *frames* sin fondo obtenidos en el apartado anterior.

La segmentación tendrá como objetivo distinguir la ubicación de las células.

Es el paso previo para poder extraer las características la célula, por tanto, es lo más importante en esta aplicación para tener un exitoso resultado. Aplicaremos, sobre las imagenes sin fondo, una serie de operaciones, basadas en un código de segmentación proporcionado por las tutoras adaptado a nuestro fin, se puede observar el resultado de las mismas en la figura 3-12 :

### 1. Conversión binaria.

La hemos realizado a través de la técnica de umbralización. Consiste en establecer un umbral tal que, todos los niveles de gris por encima de él se consideren blancos y todos los que queden por debajo serán negros, obteniendo como resultado una imagen binaria en la que los píxeles marcados con 1 (blanco) corresponden a los objetos de interés.

La elección de este umbral ha sido de forma experimental tras realizar pruebas sucesivas en varias imágenes del video. Optamos por aplicar el valor 0.85 que nos proporciona un buen resultado para todas las imágenes, pero como podemos ver en la Figura 3-12 (c), han sido detectadas regiones de la imagen que no nos interesan, así que aplicaremos algunas operaciones antes de dar por finalizada la segmentación.

### 2. Eliminación de objetos por área.

Observamos una cantidad de objetos pequeños detectados que no forman parte de las células que nos interesan, por lo que limpiamos la imagen para dejar solamente aquellos objetos con área comprendida entre 400 y 1500.

### 3. Operación morfológica de dilatación.

La morfología es un amplio conjunto de operaciones de procesamiento de imagen que procesan imágenes basadas en formas. En una operación morfológica, cada píxel de la imagen se ajusta en función del valor de otros píxeles de su vecindad. Al elegir el tamaño y la forma de la vecindad, puede construir una operación morfológica que sea sensible a formas específicas en la imagen de entrada [20].

Siendo  $A$  una imagen binaria,  $B$  una matriz que hace plantilla se definen dos operaciones:

- Dilatación de  $A$  por  $B$  es el resultado del elemento central de  $B$  cuando al menos algún elemento  $B$  está incluido dentro del conjunto  $A$ . Cuando no ocurre, el resultado de la dilatación es el conjunto vacío. Se concibe como una expansión de la imagen original, se expresa de la forma:

$$g = A \oplus B \quad (3.1.3-1)$$

- Erosión de  $A$  por  $B$  es el conjunto de los puntos alcanzados por el centro de  $B$  para los cuales todos los puntos de  $B$  están contenidos en  $A$ . Se concibe como una reducción de la imagen original, se expresa de la forma:

$$g = A \ominus B \quad (3.1.3-2)$$

En nuestro caso para el dilatado hemos utilizado como plantilla un disco de radio 4, ya que nos interesan los elementos circulares. El resultado lo podemos ver en la Figura 3-12 (e).

#### 4. Eliminación de objetos por excentricidad.

Aún quedan algunos objetos en la imagen binaria que no cumplen nuestro objetivo. Para mantener en la imagen las células de interés, utilizamos la excentricidad.

La excentricidad ( $\mathcal{E}$ ) mide el grado de desviación con respecto a una circunferencia por tanto una circunferencia tiene  $\mathcal{E} = 0$ , mientras que en una parábola  $\mathcal{E}=1$ . Las células siempre tendrán un valor comprendido entre 0 y 1, es decir,  $0 < \mathcal{E} < 1$ .

Tras la comprobación de varios valores umbral de la excentricidad, comprobamos que con el intervalo  $0 < \mathcal{E} < 0.79$  se detectan la mayoría de células en todas las imágenes de los videos sin fondo.

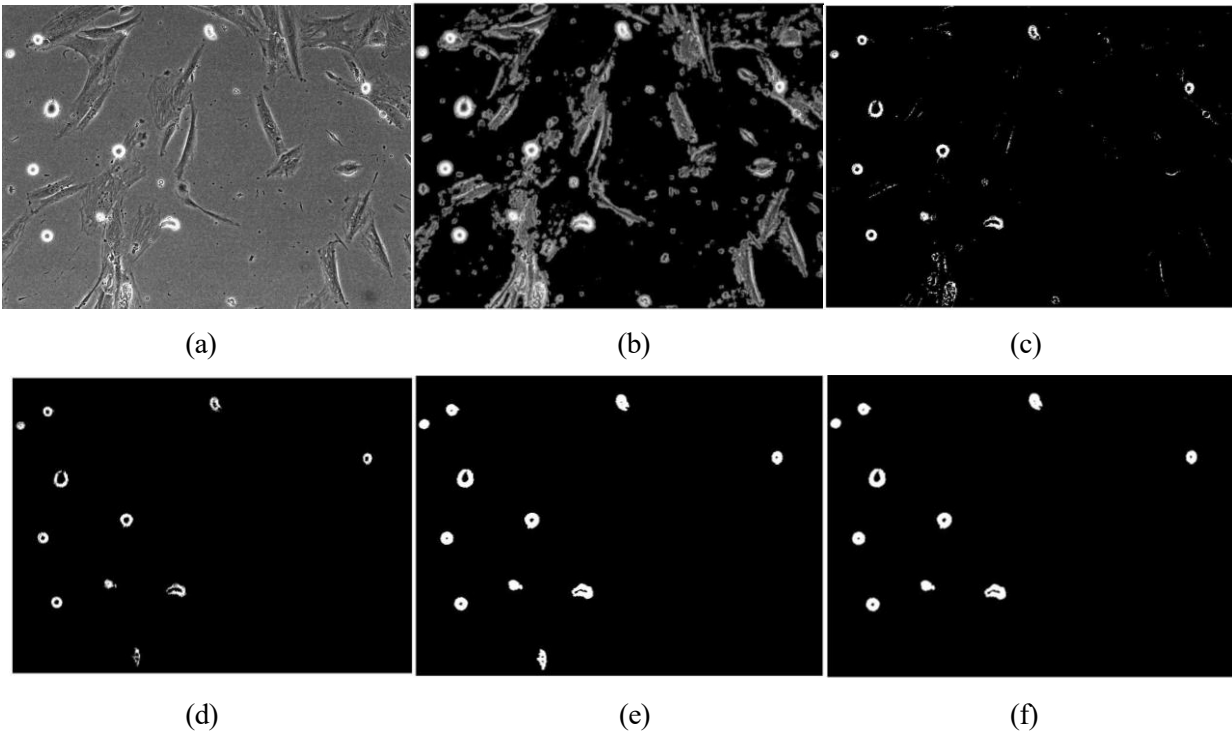


Figura 3-12. Segmentación del *frame* 100: (a) Imagen Original; (b) Imagen sin fondo método de la Entropía; (c) Conversión binaria; (d) Eliminación de objetos por área; (e) Operación morfológica de dilatado; (f) Eliminación de objetos por excentricidad



### 3.3 Extracción de Características

En este apartado nos centramos en la extracción de características de los objetos obtenidos tras la segmentación. Las características principales que queremos obtener son los valores de los centroides y las cajas contenedoras. Son esenciales para realizar un correcto seguimiento ya que proporcionan información sobre la ubicación de las células.

Basándonos en [21] se ha utilizado la función *regionprops* de Matlab, que es muy útil para el procesamiento morfológico de una imagen binaria.

$$\text{STATS} = \text{regionprops}(\text{L}, \text{properties}) \quad (3.1.3-1)$$

Mide un conjunto de propiedades para cada región etiquetada en la matriz de etiquetas L, en nuestro caso se corresponde con la imagen binaria, Figura 3-12 (f). Los elementos enteros positivos L corresponden a diferentes regiones. Por ejemplo, el conjunto de elementos de L igual a 1 corresponde a la región 1; el conjunto de elementos de L igual a 2 corresponde a la región 2; y así sucesivamente. El valor de retorno STATS, es una matriz de estructura de longitud  $\max(\text{L}(:))$ . Los campos de la matriz denotan diferentes medidas para cada región, según lo especificado por *properties*.

*Properties* puede ser una lista de cadenas separadas por comas. La siguiente tabla enumera el conjunto de cadenas válidas.

Tabla 2 . Conjunto de cadenas válidas para la función *regionprops* [21].

Area	EquivDiameter	MajorAxisLength
BoundingBox	EulerNumber	MinorAxisLength
Centroid	Extrema	Orientation
ConvexArea	Extent	PixelIdxList
ConvexHull	FilledArea	PixelList
ConvexImage	FilledImage	Solidity
Eccentricity	Image	SubarrayIdx

La figura 3-13 (b) muestra el resultado de la extracción de las características en nuestra aplicación. Como se ha indicado previamente, hemos utilizado las propiedades ‘*Centroid*’ para detectar el centro de las células y ‘*BoundingBox*’ para detectar el rectángulo más pequeño que contiene a la región.

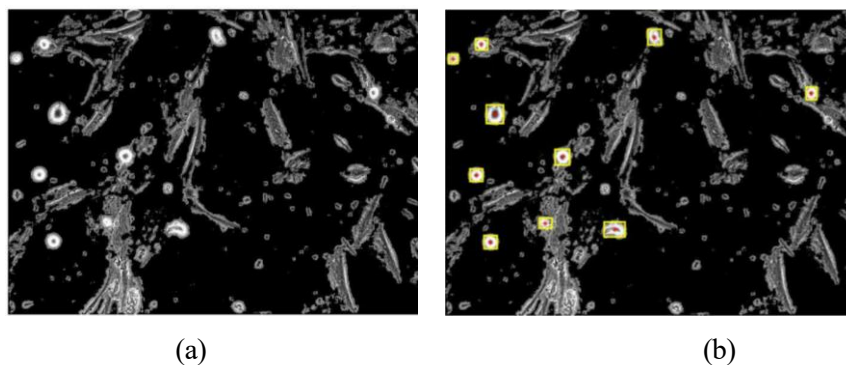


Figura 3-13. Extracción Características *Frame* 100: (a) Imagen sin fondo método de la Entropía; (b) Características de la Imagen sin fondo método de la Entropía

## 3.4 Seguimiento

El seguimiento de múltiples objetos, conocido como *Multi-target tracking* en inglés, es el proceso de estimar en el tiempo la ubicación de uno o más objetos móviles mediante el uso de una cámara. La rápida mejora en cuanto a calidad y resolución de los sensores de imagen ha favorecido la creación de aplicaciones y nuevos algoritmos mediante el seguimiento de objetos [22].

### 3.4.1 Clasificación de Técnicas de Seguimiento

El objetivo principal de las técnicas de seguimiento de objeto es generar la trayectoria de un objeto a través del tiempo posicionándolo dentro de la imagen, es una tarea muy importante dentro del campo del procesamiento del vídeo. Las técnicas de seguimiento se clasifican en tres grupos [23]: Seguimiento de Siluetas, Seguimiento del Núcleo y Seguimiento de Puntos.

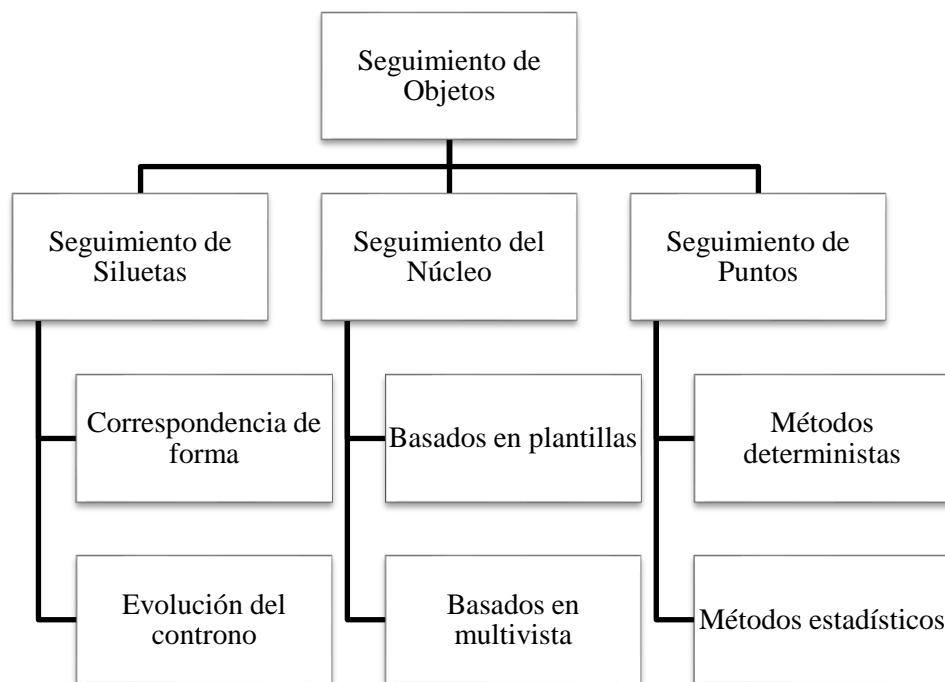


Figura 3-14. Clasificación de Técnicas de Seguimiento

#### 3.4.1.1 Técnicas de Seguimiento de siluetas

Estas técnicas se realizan mediante la valoración de la región del objeto en cada imagen utilizando la información que contiene. Dispone de dos métodos:

- Correspondencia de forma: Se busca la silueta del objeto y su modelo asociado dentro de la imagen actual.
- Seguimiento del contorno: Evolucionan un contorno inicial en un fotograma anterior a la nueva posición en el fotograma actual.

#### 3.4.1.2 Técnicas de Seguimiento del núcleo

Las técnicas de seguimiento del núcleo realizan un cálculo del movimiento del objeto, representado por una región inicial, de una imagen a la siguiente. El movimiento del objeto se expresa en forma de movimiento paramétrico (traslación, rotación,...) o mediante el campo de flujo calculado en los siguientes fotogramas. Se distinguen dos categorías:

- Seguimiento utilizando plantillas y modelos de apariencia basados en densidad de probabilidad: El

método que más se utiliza en esta categoría es el llamado *template matching*.

- Seguimiento basado en modelos multivista: Se utiliza cuando el aspecto del objeto cambia drásticamente y como consecuencia se pierde el seguimiento de este objeto.

### 3.4.1.3 Técnicas de seguimiento de puntos

Los objetos detectados en imágenes consecutivas están representados cada uno por uno o varios puntos y la asociación de éstos está basada en el estado del objeto en la imagen anterior, que puede incluir posición y movimiento. Se requiere de un mecanismo externo que detecte los objetos de cada fotograma. Esta técnica puede presentar problemas en escenarios donde el objeto presenta oclusiones y en las entradas y salidas de los mismos. Las técnicas de seguimiento de puntos se pueden clasificar también en dos categorías:

- Deterministas: Determinan el coste de correspondencia a través de una predicción futura del comportamiento del objeto a partir del anterior. Este coste se define normalmente como una combinación de las siguientes restricciones:
  - Uniformidad por proximidad.
  - Proximidad.
  - Cambios de velocidad pequeños.
  - Velocidad máxima.
  - Movimiento común.
  - Rigidez.
- Estadísticos: Estos métodos solucionan los problemas de seguimiento considerando las observaciones y las incertidumbres del modelo para la valoración del estado del objeto que se está siguiendo. Utilizan el espacio de estados para modelar las propiedades del objeto tales como la posición, la velocidad y la aceleración. Las observaciones consisten normalmente en la posición del objeto dentro de la imagen, que se obtiene mediante mecanismos de detección. Algunos de los métodos utilizados son:
  - Filtro de Kalman.
  - Filtro de partículas.
  - Filtro para la probabilidad conjunta de los datos.
  - Seguimiento de múltiples hipótesis.

### 3.4.2 Filtro de Kalman

El seguimiento de células a lo largo del tiempo es un problema de seguimiento de objetos, pero con varias complicaciones particulares del dominio [24], por lo que para reconocer si se trata de la misma célula en otra imagen nos basaremos en los datos de su posición para evitar que la información acerca de su forma y textura puedan confundirnos. El seguimiento de las células es difícil porque tienen movimientos frecuentes, actividades de deformación y tamaños de resolución pequeños en imágenes de microscopía.

Este algoritmo, que toma el nombre de su desarrollador Rudolf Kalman, tiene carácter recursivo y utiliza los valores obtenidos para predecir el estado del sistema. El algoritmo consta de dos pasos: el primer paso predice el estado del sistema, mientras que el segundo utiliza las mediciones de ruido para ajustar la estimación del estado del sistema [25].

El filtro de Kalman tiene numerosas aplicaciones en tecnología. Una aplicación común es la guía, navegación y control de vehículos, especialmente naves espaciales. Además, se utiliza ampliamente en campos como el procesamiento de señales y la econometría.

El código desarrollado para el seguimiento de las células está basado en [26].

Como se ha indicado en los apartados 3.1, 3.2 y 3.3 utilizamos tres diferentes videos sin fondo de entrada ‘VideoSinFondo\_Entropyfilt’, ‘VideoSinFondo\_Gradients’ y ‘VideoSinFondo\_Wavelet’.

El procedimiento es el siguiente:

1. Crear un objeto para la lectura del vídeo y su posterior reproducción.
2. Inicializar las variables:
  - a. *nextId*: Que se utiliza como contador para asignar identificadores a los nuevos *tracks*.
  - b. *t*: Que lleva la cuenta del *frame* en el que nos encontramos.
3. Inicializar la estructura de los *tracks*, vacía, que contendrá la siguiente información:
  - a. *id*: identificador de la célula, tendrá el mismo valor siempre que se considere el mismo objeto, en caso contrario se le asignará uno nuevo.
  - b. *bbox*: Información de la ubicación de la célula a través de su caja contenedora.
  - c. *kalmanFilter*: contiene el objeto de Kalman y su configuración, utilizado para la predicción del movimiento.
  - d. *age*: El número de cuadros, o imágenes desde que la célula fue detectada por primera vez.
  - e. *totalVisibleCount*: número total de imágenes en las que el track ha estado visible.
  - f. *consecutiveInvisibleCount*: frames consecutivos en los que el *track* no ha sido detectado, permanece invisible.

Cada célula seleccionada para su seguimiento tendrá asignado un *track* con la información anterior.

4. El cuerpo principal es un bucle que realizará las siguientes operaciones para cada *frame* mientras que existan.
  - 4.1. Lectura de un cuadro del vídeo.
  - 4.2. Procesamiento de imagen: Detallada en los apartados 3.2 y 3.3. Obtenemos información de los centroides y cajas contenedoras.
  - 4.3. Utilizamos el filtro de Kalman para predecir la ubicación del centroide, y actualizamos el campo *bbox* del *track*, por el nuevo.
  - 4.4. Para asignar las detecciones a los *tracks* existentes, minimizamos el coste que supone:
    - 4.4.1. Calculamos el coste de asignar cada detección a cada *track* utilizando el método de la distancia. El coste tiene en cuenta la distancia euclídea entre el centroide obtenido en la predicción (punto 4.3) y el centroide detectado. Obtenemos una matriz de coste  $M \times N$  donde  $M$  es el número de *tracks* y  $N$  el de detecciones.
    - 4.4.2. Solucionamos el problema de asignación utilizando la matriz de costes y el coste de no asignar ninguna detección a un *track*. Este último valor lo hemos fijado de forma experimental en 30. La función mencionada incluye la versión de Munkres del algoritmo húngaro para calcular una asignación que minimice el coste total, nos da como resultado:
      - Matriz  $M \times 2$  con los índices de las pistas asignadas y las detecciones.
      - Detecciones sin asignar.
      - Pistas sin asignar.
  - 4.5. Actualizar la información de los *tracks* asignados tras la predicción, con la matriz obtenida en el paso anterior, con la información de la región detectada. Corregimos la estimación de la ubicación a través del método *correct*. Por último, actualizamos el *bbox*, aumentamos la edad del *track* y la cuenta de visibilidad, y el recuento invisible lo establecemos a 0.
  - 4.6. Actualizar la información de los *tracks* que tras la predicción no han sido asignados. Aumentamos la cuenta de invisibilidad y su edad para esperar antes de eliminarlos, consideramos que puede ser un error puntual de la segmentación, estos tracks se etiquetan como '*Predicted*'.
  - 4.7. Eliminar los *tracks* de las células que han desaparecido. Se considera que una célula ha desaparecido si la cuenta de invisibilidad supera 9, es decir, 9 *frames* consecutivos de forma

invisible. También eliminamos un *track* si su edad es menor que 6 y su visibilidad total es menor de 0.7.

4.8. Crear nuevos *tracks* para las detecciones no asignadas. Suponemos que una detección no asignada es el principio de un nuevo *track*, es decir, el comienzo de una célula.

4.9. Para finalizar, mostramos los resultados dibujando la caja contenedora asociada a una etiqueta para cada célula. Guardamos el *frame* con las anotaciones en una matriz que llamamos *videoResultado*, para guardar el vídeo completo al finalizar la lectura de todas las imágenes.

4.10. Actualizamos el valor de *t*, para continuar el bucle.

5. Guardamos todas las imágenes contenidas en *videoResultado* en forma de vídeo.

Como se ha indicado al comienzo de este apartado, se ejecuta tres veces el mismo procedimiento para obtener tres *videosResultados*: '*Resultado\_Entropia*', '*Resultado\_Gradiente*' y '*Resultado\_Wavelet*' con el fin de comparar que método de sustracción de fondo es más efectivo en el seguimiento y estimación del tiempo.

### 3.5 Tiempo celular

Como se indicó en el Apartado 1, las células que aparecen en el vídeo, detienen el ciclo celular en la fase G1. Para calcular el tiempo de ciclo hemos continuado con esta definición, por tanto, calcularemos el tiempo pero sin diferenciar si es muerte por apoptosis o necrosis.

El cálculo del tiempo lo realizamos dentro del seguimiento a través de una matriz con la siguiente forma:

$$T = [\text{id frame1 frameN frameD}] \quad (3.4-1)$$

Sus componentes son tres vectores columna;

- *id*: Indicará el identificador del *track* usado para calcular cada tiempo.
- *frame1*: *Frame* en el que la célula es redonda u ovalada, Figura 4-1: Fotograma central.
- *frameN*: *Frame* en el que la célula comienza a deformarse, Figura 4-1: Fotograma derecha.
- *frameD*: *Frame* en el que la célula desaparece.

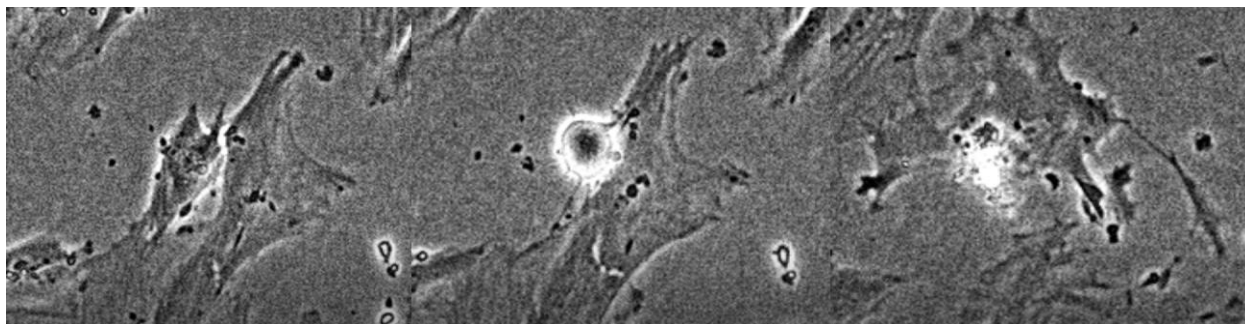


Figura 3-15 Tiempo Celular

El tiempo lo mediremos en *frames*, ya que no tenemos información de la relación que tiene el tiempo del vídeo con el tiempo real. Si tuviésemos el *frame rate* (fotogramas por segundo) en relación al tiempo real transcurrido, el cálculo sería sencillo:

$$t[s] = \frac{\text{age [frames]}}{\text{frameRate [frames/s]}} \quad (24-2)$$

Una vez entendido cómo se ha realizado el cálculo del tiempo celular, resumimos los pasos seguidos de todo el trabajo en orden en la Figura 4-2:

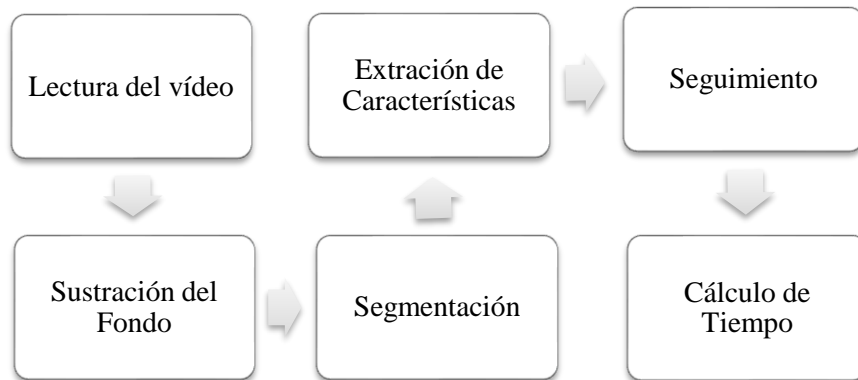


Figura 3-16 Esquema del procedimiento completo

## 4 RESULTADOS

*Un gran poder conlleva una gran responsabilidad.*

*- Franklin D. Roosevelt-*

**E**n este capítulo mostraremos los resultados obtenidos tras la implementación del algoritmo, siguiendo todos los pasos descritos en el Capítulo 3.

### 4.1 Segmentación y extracción de características

Como se ha indicado en el apartado 3.2, se ha realizado la segmentación de cada imagen a través de operaciones comunes para todos los *frames* sin fondo obtenidos en el apartado 3.1.

Para verificar que se ha logrado una correcta segmentación, se ha calculado manualmente cual es el centro real de cada superficie circular y automáticamente cual es el centro de las identificadas tras la segmentación de los vídeos sin fondo.

Tomando muestras cada 10 *frames*, obtenemos los centros en coordenadas cartesianas para cada método, son los mostrados en las Tablas 4, 5 y 6.

Para el cálculo, se ha trabajado en coordenadas polares aplicando una tolerancia del 0,05 al radio obtenido de la *Ground Truth* para verificar que las coordenadas obtenidas en cada método pertenezcan a ese área.

La tabla 3 muestra el porcentaje de error de la segmentación de cada vídeo sin fondo, se puede observar que el menor error se obtiene con el método de Combinación de Gradientes.

	Error
Método 1: Filtro de Entropía	7.69%
Método 2: Combinación de Gradientes	5.10%
Método 3: Transformada Wavelet	5.23%

Tabla 3.- Porcentaje de error en la segmentación

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
Frame 1	-	Frame 1	-
286	813	283,972	808,63
Frame 11	-	Frame 11	-
289	797	290,001	797,61
Frame 21	-	Frame 21	-
124	135	124,432	134,12
294	790	296,024	783,69
Frame 31	-	Frame 31	-
122	131	124,737	128,6
320	739	318,478	739,25
Frame 41	-	Frame 41	-
126	127	-	-
324	739	323,286	736,79
Frame 51	-	Frame 51	-
127	133	128,499	132,35
328	735	323,989	734,96
705	91	701,32	89,035
1192	261	1194,915	258
Frame 61	-	Frame 61	-
134	129	134,409	127,42
-	-	328,043	731,34
383	507	385,032	511,49
696	89	698,404	88,205
1194	265	1193,815	259,95
Frame 71	-	Frame 71	-
130	123	130,623	119,05
328	729	324,433	725,03
391	515	390,67	513,92
570	721	570,583	722,58
-	-	697,685	87,743
1200	269	1196,834	268,97
Frame 81	-	Frame 81	-
30	167	-	-
101	555	106,538	553,36
130	121	128,001	119,33
150	783	146,978	776,98
-	-	330,993	716,41
391	503	390,877	504,16
570	723	569,834	721,87
696	89	703,384	93,072
1202	273	1200,601	270,9
Frame 91	-	Frame 91	-
30	165	28,714	164,1

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
105	555	105,706	552,4
126	115	128,49	118,14
154	773	-	-
338	709	337,827	709,51
391	499	389,73	500,2
582	729	-	-
690	81	-	-
1216	275	-	-
Frame 101	-	Frame 101	-
-	-	26,773	163,8
103	551	103,777	552,14
119	119	119,658	115,29
154	775	151,271	773,8
168	349	167,194	349,38
328	711	334,316	713,15
393	489	393,197	490,68
570	731	565,921	731,97
696	91	698,067	92,281
1226	275	1223,475	280,49
Frame 111	-	Frame 111	-
-	-	27,885	164,85
105	551	105,457	552,05
118	117	120,295	116,36
150	773	151,306	773,27
172	351	172,308	347,17
332	705	333,379	707,71
395	501	396,366	501,28
564	741	559,57	740,43
702	89	702,816	88,268
1228	283	1228,206	283,65
Frame 121	-	Frame 121	-
107	553	104,707	552,72
111	119	111,166	116,76
152	771	175,052	349,42
173	347	329,838	707,68
332	705	382,877	520,3
383	521	548,526	745,84
554	751	701,36	91,624
1232	293	1231,45	289,96
Frame 131	-	Frame 131	-
-	-	26,942	164,96
101	547	106,617	117,42
107	117	151,095	775,66



<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
154	775	175,048	346,94	357	527	352,773	691,14
178	347	331,614	704,67	509	753	508,194	753,65
379	533	378,653	530,24	716	103	714,568	99,902
556	747	-	-	1220	287	1217,967	285,55
705	91	703,581	93,634	<b>Frame 181</b>		<b>Frame 181</b>	-
1230	293	1230,037	290,46	28	123	24,288	119,92
<b>Frame 141</b>	-	<b>Frame 141</b>	-	105	555	29,507	158,51
93	117	91,007	114,31	152	773	107,002	552,8
107	555	105,676	552,78	180	349	151,031	773,54
152	777	150,635	774,47	340	531	342,773	529,26
173	345	174,006	345,45	347	703	351,34	696,15
338	697	337,837	695,39	505	757	503,824	751,64
377	531	378,633	529,32	716	107	712,435	102,54
536	751	530,98	749,48	1214	285	1215,733	287,69
705	93	706,348	93,734	<b>Frame 191</b>		<b>Frame 191</b>	-
1226	291	1226,202	290,48	107	551	27,75	157,84
<b>Frame 151</b>	-	<b>Frame 151</b>	-	150	775	107,01	552,45
-	-	31,904	158,34	180	351	176,446	348,96
78	113	75,834	112,27	340	529	339,675	528,5
109	557	106,714	554,7	347	705	349,584	700,8
152	775	150,669	774,56	499	757	-	-
173	345	173,722	346,68	718	101	712,415	103,4
341	695	344,544	692,89	1212	289	1209,446	290,15
373	529	374,776	527,97	<b>Frame 201</b>		<b>Frame 201</b>	-
516	755	514,535	749,61	105	555	30,07	157,36
711	97	709,301	96,685	148	775	107,265	553,02
1222	291	1222,242	288,67	181	349	177,468	349,78
<b>Frame 161</b>		<b>Frame 161</b>	-	345	709	348,622	530,69
32	163	31,557	158,44	347	533	348,194	706,2
66	113	64,88	115,3	498	759	497,472	755,88
109	559	107,545	553,46	1202	287	1203,61	290,04
150	773	151,551	774,23	1276	95	-	-
173	347	173,908	345,68	<b>Frame 211</b>		<b>Frame 211</b>	-
345	693	348,743	691,24	107	553	29,585	156,86
366	525	364,55	524,88	152	773	106,864	553,36
511	753	512,173	752,17	181	347	150,379	772,96
710	99	711,008	98,107	334	521	333,32	519,62
1220	289	1219,529	286,89	345	717	345,926	708,36
<b>Frame 171</b>	-	<b>Frame 171</b>	-	495	759	494,737	755,94
-	-	30,988	158,27	1206	297	1203,081	297,44
58	117	55,606	117,03	1276	89	1275,311	89,43
105	557	107,542	552,5	<b>Frame 221</b>		<b>Frame 221</b>	-
152	775	150,125	774,87	107	555	29,652	156,27
176	349	174,983	349,17	180	349	107,368	553,07
349	693	356,703	526,57	334	501	177,63	348,46

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
351	707	340,237	501,25	345	33	346,237	750,6
495	757	353,202	706,55	-	-	347,483	33,284
1108	899	494,247	755,52	495	747	493,038	746,48
1208	301	1204,191	297,42	1224	331	1225,384	329,06
<b>Frame 231</b>		<b>Frame 231</b>	-	1268	811	1269,227	810,94
107	555	27,956	154,97	<b>Frame 281</b>		<b>Frame 281</b>	-
180	351	108,185	553,17	109	555	24,599	161,39
341	509	179,1	351,25	180	351	106,854	553,16
353	715	340,478	509,28	320	511	181,619	348,29
495	755	493,212	753,83	343	35	339,388	35,965
1110	891	1109,268	891,76	495	749	493,176	744,7
1206	303	1205,368	303,5	1230	343	1232,141	341,07
<b>Frame 241</b>		<b>Frame 241</b>	-	1270	817	1268,084	812,69
107	553	30,169	152,59	<b>Frame 291</b>		<b>Frame 291</b>	-
173	349	106,085	554,35	36	165	33,757	160,17
326	519	176,149	348,83	107	553	106,456	553,93
349	719	324,629	518,22	181	349	182,828	347,16
489	751	351,797	723,61	336	37	334,024	38,003
1114	897	491,706	750,06	495	743	-	-
1210	303	1207,318	304,72	1238	351	1240,402	347,61
1270	823	1267,237	819,32	1266	813	1266,067	811,62
<b>Frame 251</b>		<b>Frame 251</b>	-	<b>Frame 301</b>		<b>Frame 301</b>	-
-	-	28,027	154,13	48	157	46,353	154,65
105	553	106,026	553,47	107	555	107,306	552,59
180	349	175,356	347,6	184	349	185,397	348,18
288	513	287,549	510	330	41	331,269	39,131
351	735	350,937	736,41	398	907	396,85	904,2
495	751	493,203	748,2	498	745	495,406	742,54
1216	315	1212,775	313,03	947	547	948,031	548,78
1266	819	1268,895	816,05	1238	351	1238,429	351,53
<b>Frame 261</b>		<b>Frame 261</b>	-	<b>Frame 311</b>		<b>Frame 311</b>	-
-	-	28,402	153,01	111	553	108,432	552,87
105	557	106,008	553,1	192	347	186,53	347,1
178	347	177,865	348,25	324	45	321,5	42,508
290	513	288,798	512,63	398	909	398,102	903,83
351	39	347,04	745,48	493	739	496,03	742,15
498	753	493,091	746,66	548	21	541,556	25,722
1220	321	1218,524	319,13	630	257	632,316	255,17
1270	821	1272,172	821,51	969	543	966,434	539,17
<b>Frame 271</b>		<b>Frame 271</b>	-	1234	353	1238,447	351,74
-	-	29,205	157,82	1332	357	-	-
105	553	107,544	552,78	<b>Frame 321</b>		<b>Frame 321</b>	-
184	349	182,104	348,96	123	553	125,615	550,51
-	-	301,1	522,83	188	349	186,866	347,1

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
316	43	313,079	44,978	414	859	400,59	865
389	903	393,157	897,87	511	733	508,581	735,39
495	745	496,251	737,55	522	27	522,867	30,205
532	25	534,869	26,179	969	539	970,399	538,87
628	271	626,809	272,92	1256	371	-	-
971	535	974,004	534,48	1332	393	1334,973	388,63
1234	357	1236,351	357,54	<b>Frame 371</b>		<b>Frame 371</b>	-
1350	365	1344,476	364,99	32	111	36,003	115,52
<b>Frame 331</b>		<b>Frame 331</b>	-	119	549	113,237	551,36
144	555	141,303	548	188	351	188,621	349,79
186	345	304,385	48,392	284	55	285,1	55,607
308	49	336,423	496,83	366	523	413,223	871,1
401	889	391,868	885,18	417	875	505,08	734,09
499	739	499,123	742,42	526	33	523,15	30,525
532	23	529,947	28,719	963	547	967,485	546,63
626	287	627,9	285,68	1348	427	-	-
975	537	973,251	537,84	<b>Frame 381</b>		<b>Frame 381</b>	-
1242	367	1241,143	357,94	44	111	45,425	114,06
1342	359	1341,832	362,54	109	553	106,019	553,08
<b>Frame 341</b>		<b>Frame 341</b>	-	196	373	199,235	373,95
150	545	148,998	543,81	272	57	270,908	56,863
189	345	190,547	346,82	359	533	365,042	532,33
296	53	297,867	51,155	419	849	425,637	846,63
-	-	344,468	494,45	-	-	508,19	733,34
411	865	498,979	739,12	526	29	524,065	32,087
528	31	526,007	31,263	963	555	964,185	554,07
630	293	628,911	292,58	<b>Frame 391</b>		<b>Frame 391</b>	-
975	543	974,324	539,29	52	115	52,335	114,94
1244	363	1242,672	361,6	107	555	104,835	554,68
1340	379	1338,574	380,14	196	375	196,835	374
<b>Frame 351</b>		<b>Frame 351</b>	-	262	57	263,63	57,06
30	109	24,53	108,24	359	547	363,07	540,95
138	547	136,667	543,63	421	857	423,322	855,91
192	341	189,032	343,66	-	-	509,496	714,78
296	51	297,652	51,995	528	31	523,993	33,552
417	851	501,707	738,29	969	563	967,607	560,03
524	27	520,498	30,28	<b>Frame 401</b>		<b>Frame 401</b>	-
969	543	971,456	538,99	54	117	58,454	113,84
1242	371	1245,133	365,12	109	555	105,619	554,27
1344	393	-	-	197	371	198,912	370,59
<b>Frame 361</b>	-	<b>Frame 361</b>	-	255	57	256,906	57,876
30	117	29,578	111,57	430	865	428,904	866,39
118	551	116,091	550,74	-	-	500,964	707,57
189	345	189,184	344,39	524	33	521,859	33,427
292	55	291,595	53,454	975	567	972,283	564,65

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
<b>Frame 411</b>		<b>Frame 411</b>		<b>Frame 461</b>		<b>Frame 461</b>	
105	553	59,827	112,45	89	93	89,5	95,289
180	363	105,604	553,56	255	63	256,499	61,047
254	57	178,157	361,45	-	-	432,813	988,85
373	543	253,109	57,048	457	839	456,643	840,73
430	871	436,666	869,45	590	337	535,252	650,75
-	-	502,593	698,18	963	585	589,839	340,11
524	31	522,963	33,018	1354	429	965,02	583,45
977	571	974,745	566,55	<b>Frame 471</b>		<b>Frame 471</b>	
<b>Frame 421</b>		<b>Frame 421</b>		95	99	98,62	94,535
109	553	60,985	108,94	264	63	262,817	62,241
166	361	166,458	359,83	465	833	437,389	976,1
250	59	249,173	57,231	590	351	461,742	832,37
369	521	364,671	518,68	967	583	589,573	346
435	873	437,136	870,68	1360	425	966,65	579,81
498	697	-	-	<b>Frame 481</b>		<b>Frame 481</b>	
522	33	521,187	33,757	-	-	108,826	92,156
969	575	970,109	571,57	268	61	267,879	60,727
<b>Frame 431</b>		<b>Frame 431</b>		465	811	441,253	975,32
64	105	64,475	108,46	588	355	469,801	809,57
107	551	106,76	549,88	971	581	586,555	353,64
152	371	148,428	369,29	1364	431	972,185	577,57
250	61	249,529	58,447	<b>Frame 491</b>		<b>Frame 491</b>	
443	867	442,123	864,74	118	91	107,592	504,36
518	35	518,458	33,27	272	61	118,564	90,007
969	581	968,39	577,3	359	1007	270,664	58,978
1358	423	-	-	456	15	441,986	971,06
<b>Frame 441</b>		<b>Frame 441</b>		469	811	471,955	810,28
66	107	67,811	105,43	586	349	586,696	348,08
101	543	96,111	548,46	983	561	982,994	562,97
146	379	151,427	375,54	1360	437	-	-
250	61	250,006	60,576	<b>Frame 501</b>		<b>Frame 501</b>	
449	847	-	-	134	91	132,097	88,357
522	33	519,866	34,919	268	55	270,961	54,921
969	581	966,28	582,38	375	999	450,069	968,58
1356	419	-	-	456	29	458,774	26,244
<b>Frame 451</b>		<b>Frame 451</b>		472	815	474,917	815
76	101	73,695	98,962	588	361	587,137	361,14
252	63	99,24	544	993	557	991,6	553,73
451	851	251,1	62,748	1358	431	-	-
511	21	451,734	847,57	<b>Frame 511</b>		<b>Frame 511</b>	
576	367	-	-	140	89	111,241	507,33
963	583	965,244	581,25	274	59	138,147	86,524
1356	421	-	-	379	997	274,636	55,344

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
457	21	446,091	968,51	109	501	111,261	500,12
461	759	463,605	755,15	164	85	164,316	82,615
592	363	589,357	364,47	286	51	285,578	50,621
989	555	988,82	553,73	343	39	342,932	36,461
<b>Frame 521</b>		<b>Frame 521</b>	-	373	1011	-	-
113	503	115,251	502	488	837	487,624	834,6
146	87	142,636	85,949	1362	425	-	-
382	993	279,111	56,413	<b>Frame 581</b>		<b>Frame 581</b>	-
456	751	458,601	748,08	118	501	123,026	500,19
459	19	-	-	164	87	162,715	83,65
588	381	-	-	-	-	293,622	49,28
997	551	-	-	351	41	343,598	39,199
<b>Frame 531</b>		<b>Frame 531</b>	-	499	847	494,864	847,35
118	509	117,449	507,76	1366	419	-	-
150	87	149,186	84,657	<b>Frame 591</b>		<b>Frame 591</b>	-
385	991	274,306	51,082	130	497	126,869	495,36
463	21	465,456	764,53	168	87	167,735	83,691
465	767	-	-	-	-	298,364	46,499
1366	439	-	-	488	851	347,779	38,369
<b>Frame 541</b>		<b>Frame 541</b>	-	1366	415	491,73	858,19
113	501	115,019	500,49	<b>Frame 601</b>		<b>Frame 601</b>	-
156	89	153,999	83,806	134	495	127,961	491,08
349	29	278,21	50,102	164	87	166,606	85,019
379	999	-	-	489	853	348,324	38,026
457	15	468,179	961,89	1360	417	491,594	857,62
477	795	478,293	793,81	<b>Frame 611</b>		<b>Frame 611</b>	-
1360	439	-	-	164	85	131,053	488,82
<b>Frame 551</b>		<b>Frame 551</b>	-	377	1005	165,489	82,667
109	337	-	-	489	845	345,789	39,888
111	503	111,256	504,9	600	279	489,685	843,7
160	85	159,881	82,166	1362	413	595,803	280,63
379	999	-	-	-	-	620,059	605,63
441	11	-	-	<b>Frame 621</b>		<b>Frame 621</b>	-
479	815	482,395	813,76	138	489	170,7	81,84
1360	439	-	-	172	89	-	-
<b>Frame 561</b>		<b>Frame 561</b>	-	379	1001	-	-
99	335	-	-	495	841	491,904	841,67
107	505	109,171	502,14	594	301	591,532	305,73
164	85	161,941	82,017	1358	411	619,875	606,6
282	55	-	-	<b>Frame 631</b>		<b>Frame 631</b>	-
377	999	342,726	34,68	140	483	168,94	77,487
491	823	489,145	823,45	172	79	451,289	995,85
1362	435	-	-	377	1001	497,454	837,52
<b>Frame 571</b>		<b>Frame 571</b>	-	499	835	583,36	310,44
105	339	-	-	1362	423	618,615	605,26

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
Frame 641		Frame 641	-
78	363	-	-
377	999	-	-
509	839	502,749	838,33
1362	445	577,076	309,16
Frame 651		Frame 651	-
84	341	-	-
176	77	-	-
379	995	503,22	849,93
507	855	574,758	310,06
1226	137	1230,613	133,7
1360	451	-	-
Frame 661		Frame 661	-
87	321	309,586	45,2
308	53	506,965	856,9
383	1009	576,208	304,15
511	855	618,115	605,48
1226	129	1225,561	130,85
1356	455	1351,966	458,71
Frame 671		Frame 671	-
91	315	90,77	311,02
302	47	-	-
387	1003	-	-
520	865	513,398	869,29
574	295	-	-
1164	539	1156,851	538,55
1222	129	1222,487	130,43
1344	467	1343,138	469,82
Frame 681		Frame 681	-
99	307	98,002	308,89
-	-	169,113	75,765
-	-	511,077	884,88
-	-	590,137	282,32
1158	537	1154,032	538,06
1218	131	1218,31	130,53
1334	481	1331,529	479,26
Frame 691		Frame 691	-
89	307	169,985	73,126
306	43	327,4	29,6
377	1003	1149,396	535,09
1154	535	1211,481	132,04
1214	133	1322,528	490,57
Frame 701		Frame 701	-
382	993	171,144	73,238

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
-	-	593,658	257,66
1154	533	1146,636	532,57
-	-	1209,87	129,59
-	-	1326,027	490,97
Frame 711		Frame 711	-
306	41	322,659	26,406
-	-	526,31	883,01
1150	533	1143,875	534,74
1204	129	1207,886	128,38
1312	503	1314,628	502,05
Frame 721		Frame 721	-
-	-	172,926	75,705
1148	531	1144,505	531,03
1204	133	1204,154	128,85
1316	509	1314,449	508,85
Frame 731		Frame 731	-
-	-	591,383	250,08
1136	515	1135,128	515,3
1196	133	1198,151	132,13
1314	511	1313,566	513,42
Frame 741		Frame 741	-
1198	129	-	-
1308	517	1311,337	515,72
Frame 751		Frame 751	-
184	77	318,35	34,641
1196	129	-	-
1320	521	1311,91	520,41
Frame 761		Frame 761	-
1324	517	519,826	895,61
-	-	1316,43	518,29
Frame 771		Frame 771	-
1314	527	1315,245	524,7
Frame 781		Frame 781	-
1310	529	299,485	45,171
-	-	501,509	912,79
-	-	949,378	558,93
Frame 791		Frame 791	-
316	41	303,249	43,999
501	907	499,652	915,06
1346	555	1323,18	547,46
Frame 801		Frame 801	-
379	985	300,466	42,59
-	-	507,807	912,88
Frame 811		Frame 811	-

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 1</i>	
X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
302	43	511,77	912,55	Frame 851	-	Frame 851	-
391	985	-	-	218	77	213,958	77,035
1320	537	-	-	-	-	301,287	40,965
Frame 821	-	Frame 821	-	524	917	521,148	916,81
387	987	304,728	40,227	1286	513	1287,319	509,67
-	-	514,888	916,2	Frame 861	-	Frame 861	-
1308	525	1306,456	532,52	214	79	216,052	76,427
Frame 831	-	Frame 831	-	-	-	298,843	37,438
-	-	204,444	78,673	522	919	521,436	921,07
389	973	302,313	37,257	1292	499	1293,199	499,35
1308	527	516,553	917,19	Frame 871	-	Frame 871	-
Frame 841	-	Frame 841	-	218	81	217,255	77,47
-	-	304,585	40,705	534	917	297,659	36,427
526	909	519,6	915,66	1286	481	529,675	922,74
1292	517	1297,769	518,6	-	-	1288,794	491,43

Tabla 4.- Centros detectados en el vídeo sin fondo (Método 1) tras segmentación.

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>	
X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
Frame 1	-	Frame 1	-	Frame 71	-	Frame 71	-
286	813	283,78	808,779	130	123	130,575	118,895
Frame 11	-	Frame 11	-	328	729	324,608	724,951
289	797	290	798	391	515	390,582	513,894
Frame 21	-	Frame 21	-	570	721	570,503	722,482
124	135	124,367	134,032	-	-	697,666	87,909
294	790	295,86	783,819	1200	269	1196,868	268,76
Frame 31	-	Frame 31	-	Frame 81	-	Frame 81	-
122	131	124,717	128,533	30	167	-	-
320	739	318,399	739,405	101	555	106,539	553,65
Frame 41	-	Frame 41	-	130	121	127,798	119,552
126	127	129,354	128,824	150	783	146,793	777,059
324	739	324,343	736,688	-	-	331,007	716,23
Frame 51	-	Frame 51	-	391	503	391,102	504,314
127	133	128,428	132,25	570	723	569,903	722,142
328	735	324,268	735,338	696	89	703,411	92,875
705	91	701,167	89,175	1202	273	1200,52	270,787
1192	261	-	-	Frame 91	-	Frame 91	-
Frame 61	-	Frame 61	-	30	165	28,636	163,863
134	129	134,444	127,302	105	555	105,797	552,781
-	-	327,875	731,385	126	115	128,479	118,043
383	507	384,984	511,971	154	773	151,861	774,55
696	89	698,389	88,48	338	709	337,944	709,796
1194	265	1193,572	259,82	391	499	389,966	500,081

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
582	729	-	-
690	81	-	-
1216	275	1213,537	274,054
<b>Frame 101</b>	-	<b>Frame 101</b>	-
-	-	26,834	163,821
103	551	104,122	552,172
119	119	119,5	115,306
154	775	151,603	774,071
168	349	167,511	349,3
328	711	334,391	713,231
393	489	392,915	491,493
570	731	565,755	732,116
696	91	698,135	92,401
1226	275	1223,688	280,518
<b>Frame 111</b>	-	<b>Frame 111</b>	-
-	-	27,76	164,793
105	551	105,426	552,232
118	117	120,117	116,272
150	773	151,534	773,338
172	351	172,363	347,484
332	705	333,544	707,719
395	501	396,242	501,146
564	741	559,687	740,473
702	89	702,673	88,427
1228	283	1228,21	283,485
<b>Frame 121</b>		<b>Frame 121</b>	-
107	553	104,96	552,899
111	119	111,182	116,628
152	771	151,514	773,844
173	347	174,913	349,482
332	705	329,889	707,69
383	521	383,413	520,455
554	751	547,933	745,755
-	-	700,946	90,925
1232	293	1231,4	289,83
<b>Frame 131</b>	-	<b>Frame 131</b>	-
-	-	26,769	164,883
101	547	105,091	552,21
107	117	106,714	117,399
154	775	151,358	775,81
178	347	174,98	346,863
379	533	331,495	704,732
556	747	378,572	530,103
705	91	703,467	93,505

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
1230	293	1230,175	290,362
<b>Frame 141</b>	-	<b>Frame 141</b>	-
93	117	91,11	114,444
107	555	105,946	553,118
152	777	151,104	774,621
173	345	173,855	345,792
338	697	337,973	695,897
377	531	378,6	529,347
536	751	531,047	749,402
705	93	706,248	93,794
1226	291	1226,124	290,503
<b>Frame 151</b>	-	<b>Frame 151</b>	-
-	-	31,98	158,356
78	113	76,303	112,156
109	557	106,91	554,617
152	775	150,679	774,952
173	345	173,74	346,841
341	695	344,526	692,907
373	529	374,854	528,233
516	755	514,806	749,859
711	97	709,387	96,736
1222	291	1222,229	288,666
<b>Frame 161</b>		<b>Frame 161</b>	-
32	163	31,421	158,452
66	113	65,31	115,35
109	559	107,703	553,587
150	773	151,985	774,61
173	347	173,892	345,833
345	693	348,908	691,194
366	525	364,615	524,877
511	753	512,252	752,13
710	99	711,066	98,241
1220	289	1219,442	286,934
<b>Frame 171</b>	-	<b>Frame 171</b>	-
-	-	30,948	158,177
58	117	55,621	117,121
105	557	107,432	552,607
152	775	150,268	774,892
176	349	175,011	349,212
349	693	356,828	526,539
357	527	352,893	691,166
509	753	508,136	753,521
716	103	714,597	99,818
1220	287	1217,813	285,531



<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
Frame 181		Frame 181	-	495	757	353,168	706,401
-	-	24,403	119,931	1108	899	494,342	755,416
28	123	29,735	158,573	1208	301	1204,196	297,38
105	555	107,071	552,851	Frame 231		Frame 231	-
152	773	150,843	773,573	107	555	28,007	154,887
180	349	175,5	348,386	180	351	108,132	553,21
340	531	342,835	529,178	341	509	179,16	351,075
347	703	351,387	696,15	353	715	340,463	509,112
505	757	503,913	752,115	495	755	493,055	753,587
716	107	712,437	102,572	1110	891	1108,759	891,534
1214	285	1215,762	287,684	1206	303	1205,346	303,457
Frame 191		Frame 191	-	Frame 241		Frame 241	-
-	-	27,783	157,64	107	553	30,138	152,54
107	551	107,162	552,491	173	349	106,271	554,208
150	775	151,712	772,797	326	519	176,102	348,271
180	351	176,305	348,914	349	719	324,565	518,146
340	529	339,769	528,428	489	751	351,423	723,683
347	705	349,811	700,8	1114	897	491,969	749,969
499	757	499,74	755,452	1210	303	1207,314	304,771
718	101	712,423	103,211	1270	823	1266,971	819,442
1212	289	1209,436	290,16	Frame 251		Frame 251	-
Frame 201		Frame 201	-	-	-	28,079	153,865
105	555	30,148	157,314	105	553	106,274	553,386
148	775	107,283	553,188	180	349	175,273	347,334
181	349	150,89	773,535	288	513	287,722	510,112
345	709	177,368	349,7	351	735	351,016	736,382
347	533	348,812	530,574	495	751	493,213	748,135
498	759	348,135	706,265	1216	315	1212,725	313,124
1202	287	497,546	755,824	1266	819	1268,878	816,202
1276	95	1203,594	290,104	Frame 261		Frame 261	-
Frame 211		Frame 211	-	-	-	28,358	152,924
-	-	29,574	156,879	105	557	106,047	553,069
107	553	107,006	553,149	178	347	177,865	348,104
152	773	150,447	772,963	290	513	288,89	512,539
181	347	177,912	349,517	351	39	347,183	745,495
334	521	332,987	519,513	498	753	493,209	746,565
345	717	345,97	708,36	1220	321	1218,488	319,118
495	759	494,766	755,873	1270	821	1271,898	821,684
1206	297	1203,113	297,421	Frame 271		Frame 271	-
1276	89	1275,308	89,41	-	-	29,286	157,729
Frame 221		Frame 221	-	105	553	107,666	552,864
107	555	29,806	156,176	184	349	182,155	348,763
180	349	107,633	553,129	-	-	300,942	522,636
334	501	177,612	348,352	345	33	346,275	750,497
351	707	340,234	501,033	-	-	347,576	33,196

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
495	747	492,916	746,225	389	903	393,171	898,499
1224	331	1225,458	329,193	495	745	496,252	737,474
1268	811	1269,246	811,117	532	25	534,89	26,058
<b>Frame 281</b>		<b>Frame 281</b>	-	628	271	626,773	272,841
109	555	24,979	161,17	971	535	973,984	534,423
180	351	106,936	553,195	1234	357	1236,325	357,534
320	511	181,52	348,085	1350	365	1344,477	364,957
343	35	339,577	35,91	<b>Frame 331</b>		<b>Frame 331</b>	-
495	749	493,263	744,646	144	555	141,341	547,92
1230	343	1232,288	341,013	186	345	186,155	346,291
1270	817	1268,037	812,806	308	49	304,43	48,201
<b>Frame 291</b>		<b>Frame 291</b>	-	-	-	336,608	496,821
-	-	13,418	100,49	401	889	391,754	884,987
36	165	33,534	160,733	499	739	498,982	742,162
107	553	106,389	553,809	532	23	529,692	28,602
181	349	182,96	347,315	626	287	627,898	285,717
336	37	333,924	38,019	975	537	973,362	537,877
495	743	493,456	744,166	1242	367	1241,259	357,954
1238	351	1240,32	347,5	1342	359	1341,89	362,751
1266	813	1266,159	811,777	<b>Frame 341</b>		<b>Frame 341</b>	-
<b>Frame 301</b>		<b>Frame 301</b>	-	150	545	21,078	108,345
48	157	46,256	154,98	189	345	149,058	543,639
107	555	107,384	552,678	296	53	190,463	346,771
184	349	185,363	348,242	-	-	297,784	51,07
330	41	331,32	39,095	411	865	498,746	739,007
398	907	397,222	904,471	528	31	525,846	31,165
498	745	495,419	742,448	630	293	628,825	292,511
947	547	948,137	548,794	975	543	974,348	539,29
1238	351	1238,425	351,547	1244	363	1242,828	361,678
<b>Frame 311</b>		<b>Frame 311</b>	-	1340	379	1338,217	379,925
111	553	108,429	552,795	<b>Frame 351</b>		<b>Frame 351</b>	-
192	347	186,484	346,96	30	109	24,561	108,066
324	45	321,521	42,526	138	547	137,198	543,676
398	909	397,962	903,959	192	341	189,029	343,512
493	739	496,128	742,069	296	51	297,544	51,922
548	21	541,279	20,693	417	851	501,609	738,432
630	257	632,265	255,229	524	27	520,424	30,305
969	543	966,39	539,207	969	543	971,426	539,008
1234	353	1238,409	351,896	1242	371	1245,369	365,218
1332	357	-	-	1344	393	-	-
<b>Frame 321</b>		<b>Frame 321</b>	-	<b>Frame 361</b>	-	<b>Frame 361</b>	-
123	553	125,546	550,456	30	117	29,501	111,571
188	349	186,832	347,052	118	551	116,314	550,917
316	43	313,013	44,89	189	345	189,102	344,403

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
292	55	291,525	53,392
414	859	400,681	864,761
511	733	508,377	735,858
522	27	522,997	29,958
969	539	970,476	538,847
1256	371	-	-
1332	393	1334,937	388,623
<b>Frame 371</b>		<b>Frame 371</b>	-
32	111	35,828	115,489
119	549	113,567	551,152
188	351	188,7	349,706
284	55	284,975	55,578
366	523	413,45	871,098
417	875	505,036	734,098
526	33	523,418	30,219
963	547	967,41	546,707
1348	427	1339,498	434,933
<b>Frame 381</b>		<b>Frame 381</b>	-
44	111	45,43	113,969
109	553	106,44	553,204
196	373	199,132	373,86
272	57	270,71	56,92
359	533	365,29	532,503
419	849	425,57	847,317
-	-	508,063	733,862
526	29	523,825	31,577
963	555	964,309	553,859
<b>Frame 391</b>		<b>Frame 391</b>	-
52	115	52,277	115,28
107	555	104,73	554,548
196	375	196,788	373,912
262	57	263,644	57,011
359	547	362,958	540,682
421	857	423,185	856,127
-	-	509,426	714,453
528	31	524,188	33,268
969	563	967,643	559,949
<b>Frame 401</b>		<b>Frame 401</b>	-
54	117	58,312	113,864
109	555	105,349	554,539
197	371	198,955	370,47
255	57	256,821	57,974
430	865	428,944	866,616
-	-	500,907	707,853
524	33	521,929	33,209

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
975	567	972,254	564,517
<b>Frame 411</b>		<b>Frame 411</b>	-
105	553	59,758	112,651
180	363	105,643	553,654
254	57	178,139	361,453
373	543	253,109	57,121
430	871	436,676	869,435
-	-	502,894	697,601
524	31	523,125	32,911
977	571	974,679	566,503
<b>Frame 421</b>		<b>Frame 421</b>	-
109	553	60,956	109,049
166	361	166,551	359,844
250	59	249,272	57,194
369	521	364,104	518,04
435	873	437,262	870,57
498	697	-	-
522	33	521,152	33,701
969	575	970,151	571,489
<b>Frame 431</b>		<b>Frame 431</b>	-
64	105	64,378	108,468
107	551	106,631	550,166
152	371	148,433	369,42
250	61	249,522	58,535
443	867	441,971	864,717
518	35	518,479	33,127
969	581	968,377	577,211
1358	423	1358,926	424,491
<b>Frame 441</b>		<b>Frame 441</b>	-
66	107	67,824	105,449
101	543	96,222	548,403
146	379	151,518	375,424
250	61	249,945	60,638
449	847	-	-
522	33	519,955	34,64
969	581	966,392	582,427
1356	419	1356,563	417,597
<b>Frame 451</b>		<b>Frame 451</b>	-
76	101	73,704	98,877
-	-	99,147	544,49
252	63	251,072	62,735
451	851	429,557	1001,522
511	21	451,624	847,694
576	367	510,761	18,769
963	583	965,265	581,229

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
1356	421	1357,268	419,077
<b>Frame 461</b>		<b>Frame 461</b>	-
89	93	89,478	95,485
255	63	256,439	61,099
-	-	432,492	989,326
457	839	456,6	840,803
-	-	534,85	650,202
590	337	589,416	340,199
963	585	965,107	583,372
1354	429	1360,045	425,306
<b>Frame 471</b>		<b>Frame 471</b>	-
95	99	98,63	94,491
264	63	262,786	62,189
-	-	437,179	975,997
465	833	461,795	832,531
590	351	589,176	346,232
967	583	966,601	579,806
1360	425	1361,558	425,117
<b>Frame 481</b>		<b>Frame 481</b>	-
-	-	108,862	92,189
268	61	267,82	60,727
-	-	441,075	975,641
465	811	469,995	809,668
588	355	586,416	353,604
971	581	972,267	577,547
1364	431	1359,776	429,878
<b>Frame 491</b>		<b>Frame 491</b>	-
-	-	107,914	503,942
118	91	118,676	90,04
272	61	270,698	59,019
359	1007	441,894	971,055
456	15	459,456	16,379
469	811	471,862	810,019
586	349	586,597	348,278
983	561	983,128	562,861
1360	437	1359,654	434,289
<b>Frame 501</b>		<b>Frame 501</b>	-
134	91	132,115	88,316
268	55	271,091	54,964
375	999	449,851	968,565
456	29	458,623	26,303
472	815	475,044	814,838
588	361	587,025	361,24
993	557	991,724	553,79

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
1358	431	1360,902	432,711
<b>Frame 511</b>		<b>Frame 511</b>	-
-	-	110,994	507,16
140	89	138,242	86,499
274	59	274,638	55,297
379	997	445,96	967,936
457	21	457,637	19,133
461	759	463,668	755,276
592	363	589,33	364,612
989	555	988,858	553,714
-	-	1364,897	434,772
<b>Frame 521</b>		<b>Frame 521</b>	-
113	503	115,327	502,094
146	87	142,36	85,897
382	993	278,98	56,44
456	751	382,448	995,283
459	19	458,566	748,187
588	381	460,513	17,286
997	551	994,5	548,584
-	-	1362,13	435,176
<b>Frame 531</b>		<b>Frame 531</b>	-
118	509	117,487	507,745
150	87	149,211	84,655
385	991	274,35	51,001
463	21	384,038	994,031
465	767	460,85	15,019
1366	439	465,74	764,722
<b>Frame 541</b>		<b>Frame 541</b>	-
113	501	114,61	500,67
156	89	154,055	83,716
349	29	278,478	50,433
379	999	458,089	13,357
457	15	468,129	961,836
477	795	478,332	793,821
1360	439	1361,112	436,875
<b>Frame 551</b>		<b>Frame 551</b>	-
109	337	-	-
111	503	111,378	504,654
160	85	159,697	82,052
379	999	-	-
441	11	442,179	12,732
479	815	482,289	813,675
1360	439	1356,949	434,982
<b>Frame 561</b>		<b>Frame 561</b>	-

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
99	335	-	-	495	841	591,462	305,637
107	505	109,14	501,99	594	301	619,955	606,84
164	85	161,946	82,094	1358	411	1356,96	410,776
282	55	-	-	<b>Frame 631</b>		<b>Frame 631</b>	-
377	999	342,633	34,6	140	483	168,989	77,525
491	823	489,159	823,641	172	79	450,994	996,348
1362	435	-	-	377	1001	497,235	837,545
<b>Frame 571</b>		<b>Frame 571</b>	-	499	835	583,383	310,423
105	339	-	-	1362	423	618,673	605,215
109	501	111,436	499,955	<b>Frame 641</b>		<b>Frame 641</b>	-
164	85	164,239	82,737	78	363	-	-
286	51	285,404	50,764	377	999	-	-
343	39	342,747	36,493	509	839	502,517	838,514
373	1011	-	-	1362	445	577,106	309,062
488	837	487,831	834,499	<b>Frame 651</b>		<b>Frame 651</b>	-
1362	425	-	-	84	341	-	-
<b>Frame 581</b>		<b>Frame 581</b>	-	176	77	502,667	849,824
118	501	122,704	499,944	379	995	574,772	310,01
164	87	162,773	83,714	507	855	-	-
-	-	293,737	49,176	1226	137	1230,679	133,706
351	41	343,612	39,184	1360	451	1359,781	451,24
499	847	495,573	846,973	<b>Frame 661</b>		<b>Frame 661</b>	-
1366	419	1364,275	421,414	87	321	309,634	45,141
<b>Frame 591</b>		<b>Frame 591</b>	-	308	53	-	-
130	497	127,625	493,638	383	1009	506,97	856,651
168	87	167,755	83,809	511	855	576,232	303,905
-	-	298,28	46,584	-	-	618,141	605,407
488	851	347,688	38,435	1226	129	1225,553	130,752
1366	415	491,841	857,648	1356	455	1351,963	458,876
<b>Frame 601</b>		<b>Frame 601</b>	-	<b>Frame 671</b>		<b>Frame 671</b>	-
134	495	128,027	491,015	91	315	90,787	310,992
164	87	166,819	84,987	302	47	-	-
489	853	348,343	38,015	387	1003	-	-
1360	417	491,499	857,598	520	865	513,296	869,272
<b>Frame 611</b>		<b>Frame 611</b>	-	574	295	-	-
-	-	131,151	488,933	1164	539	1156,986	538,637
164	85	165,627	82,689	1222	129	1222,599	130,471
377	1005	345,802	39,912	1344	467	1343,408	469,858
489	845	489,583	843,411	<b>Frame 681</b>		<b>Frame 681</b>	-
600	279	595,908	280,571	99	307	98,271	309,23
1362	413	620,175	605,574	-	-	168,959	75,965
<b>Frame 621</b>		<b>Frame 621</b>	-	-	-	438,549	998,321
138	489	170,74	81,657	-	-	511,394	884,683
172	89	-	-	1158	537	1154,162	538,097
379	1001	491,944	841,358	1218	131	1218,452	130,561

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
1334	481	1331,492	479,385
Frame 691		Frame 691	-
89	307	170,036	73,148
306	43	327,299	29,681
377	1003	378,354	999,901
1154	535	1149,563	535,234
1214	133	1211,422	132,027
-	-	1322,49	490,403
Frame 701		Frame 701	-
-	-	171,064	73,161
382	993	325,769	24,478
-	-	593,709	257,552
1154	533	1147,311	532,713
-	-	1209,851	129,665
-	-	1325,82	491,105
Frame 711		Frame 711	-
-	-	169,442	75,795
306	41	322,647	26,167
-	-	526,547	882,867
1150	533	1144,315	534,904
1204	129	1207,546	128,285
1312	503	1314,748	502,016
Frame 721		Frame 721	-
-	-	172,832	75,365
-	-	323,006	22,34
1148	531	1144,889	531,085
1204	133	1204,139	128,818
1316	509	1314,379	508,77
Frame 731		Frame 731	-
-	-	321,635	24,423
-	-	591,468	250,099
1136	515	1135,398	515,141
1196	133	1198,068	132,245
1314	511	1313,609	513,392
Frame 741		Frame 741	-
1198	129	376,82	973,286
1308	517	1311,332	515,479
Frame 751		Frame 751	-
184	77	318,356	34,516
1196	129	-	-
1320	521	1311,895	520,4
Frame 761		Frame 761	-
-	-	519,759	895,673
1324	517	1316,288	518,244

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 2</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
Frame 771		Frame 771	-
1314	527	1315,185	524,599
Frame 781		Frame 781	-
-	-	299,719	44,86
-	-	502,708	912,179
1310	529	949,221	558,835
Frame 791		Frame 791	-
316	41	302,969	43,688
501	907	499,858	915,061
1346	555	1323,737	547,641
Frame 801		Frame 801	-
379	985	300,435	42,485
Frame 811		Frame 811	-
302	43	298,798	41,271
391	985	512,552	913,005
1320	537	-	-
Frame 821		Frame 821	-
387	987	304,576	40,371
-	-	514,964	916,108
1308	525	1306,455	532,505
Frame 831		Frame 831	-
-	-	204,613	78,649
389	973	302,302	36,951
1308	527	516,755	917,26
Frame 841		Frame 841	-
-	-	304,459	40,495
526	909	519,685	915,313
1292	517	1297,654	518,458
Frame 851		Frame 851	-
218	77	213,915	77,021
-	-	301,077	40,813
524	917	521,155	916,494
1286	513	1287,343	509,512
Frame 861		Frame 861	-
214	79	216,194	76,671
-	-	298,841	37,274
522	919	521,738	920,427
1292	499	1293,201	499,339
Frame 871		Frame 871	-
218	81	217,35	77,414
-	-	297,524	36,03
-	-	529,594	922,579
1286	481	1288,679	491,322

Tabla 5.- Centros detectados en el vídeo sin fondo (Método 2) tras segmentación

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
Frame 1	-	Frame 1	-	-	-	330,475	715,958
286	813	283,667	808,131	391	503	390,501	502,959
Frame 11	-	Frame 11	-	570	723	569,569	721,379
289	797	289	797	696	89	698,157	87,982
Frame 21	-	Frame 21	-	1202	273	1200,852	271,249
124	135	123,683	133,993	Frame 91	-	Frame 91	-
294	790	295,714	783,383	30	165	28,698	163,49
Frame 31	-	Frame 31	-	105	555	105,207	551,962
122	131	123,69	128,108	126	115	127,9	117,218
320	739	317,654	738,157	154	773	151,378	773,876
Frame 41	-	Frame 41	-	338	709	336,588	708,704
126	127	128,619	128,295	391	499	389,196	499,446
324	739	323,732	735,814	582	729	-	-
Frame 51	-	Frame 51	-	690	81	695,797	87,578
127	133	19,337	168,284	1216	275	1213,188	273,966
328	735	127,892	131,538	Frame 101	-	Frame 101	-
705	91	324,054	734,285	-	-	26,65	163,299
1192	261	700,814	88,471	103	551	103,323	551,605
Frame 61	-	Frame 61	-	119	119	119,05	115,129
134	129	30,035	163,432	154	775	150,709	773,246
-	-	133,875	126,36	168	349	166,612	351,556
-	-	327,136	730,96	328	711	330,46	711,316
383	507	384,433	510,538	393	489	392,47	490,149
696	89	697,788	87,714	570	731	569,335	731,459
1194	265	1192,649	260,72	696	91	696,34	90,51
Frame 71	-	Frame 71	-	1226	275	1223,448	279,816
-	-	30,857	162,561	Frame 111	-	Frame 111	-
130	123	130,24	118,384	-	-	27,313	164,094
328	729	323,978	724,985	105	551	104,878	551,507
391	515	389,883	513,513	118	117	119,617	115,525
570	721	570,292	722,18	150	773	150,845	772,893
-	-	694,914	85,185	172	351	171,799	346,638
1200	269	1196,728	269,024	332	705	333,114	707,2
Frame 81	-	Frame 81	-	395	501	395,567	500,409
30	167	29,31	163,591	564	741	560,252	740,73
101	555	105,827	552,933	702	89	702,453	87,818
130	121	127,151	118,943	1228	283	1227,673	282,816
150	783	146,517	776,287	Frame 121		Frame 121	-



<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
-	-	26,252	164,397	109	559	107,025	552,968
107	553	104,289	552,138	150	773	151,326	773,999
111	119	110,989	116,012	173	347	173,416	345,039
152	771	150,71	773,435	345	693	348,077	691,167
173	347	174,344	348,588	366	525	364,063	524,46
332	705	329,608	707,181	511	753	511,96	751,797
383	521	382,492	519,587	710	99	710,632	97,758
554	751	548,607	745,538	1220	289	1218,829	286,435
-	-	699,098	89,306	<b>Frame 171</b>	-	<b>Frame 171</b>	-
1232	293	1231,149	289,267	-	-	30,667	157,421
<b>Frame 131</b>	-	<b>Frame 131</b>	-	58	117	54,378	116,6
-	-	26,663	164,146	105	557	106,77	552,147
101	547	104,476	551,706	152	775	149,837	774,155
107	117	105,866	116,649	176	349	174,232	348,393
154	775	150,756	775,152	349	693	356,062	525,938
178	347	174,262	346,18	357	527	351,946	690,719
-	-	331,576	704,168	509	753	507,616	752,882
379	533	377,695	529,401	716	103	714,374	99,374
556	747	549,233	744,401	1220	287	1217,237	284,798
705	91	703,08	92,974	<b>Frame 181</b>	-	<b>Frame 181</b>	-
1230	293	1229,616	289,85	28	123	23,679	119,376
<b>Frame 141</b>	-	<b>Frame 141</b>	-	105	555	106,226	552,122
93	117	89,967	113,819	152	773	150,385	773,123
107	555	105,34	552,174	180	349	175,119	347,755
152	777	150,126	774,007	340	531	342,095	528,85
173	345	173,283	344,993	347	703	350,346	696,162
338	697	337,118	695,118	505	757	503,324	751,471
377	531	377,81	528,994	716	107	712,314	102,185
536	751	531,37	749,393	1214	285	1215,286	287,078
705	93	705,679	93,406	<b>Frame 191</b>	-	<b>Frame 191</b>	-
1226	291	1225,818	290,15	-	-	27,583	157,251
<b>Frame 151</b>	-	<b>Frame 151</b>	-	107	551	106,526	551,946
78	113	75,606	111,903	150	775	151,177	772,188
109	557	106,221	554,12	180	351	175,606	348,118
152	775	150,343	774,289	340	529	338,792	528,216
173	345	173,133	346,037	347	705	348,477	700,094
341	695	344,468	692,435	499	757	499,382	754,602
373	529	373,977	527,444	718	101	711,959	102,917
516	755	515,286	750,282	1212	289	1208,862	289,716
711	97	708,791	96,123	<b>Frame 201</b>	-	<b>Frame 201</b>	-
1222	291	1221,778	288,293	105	555	29,607	156,868
<b>Frame 161</b>	-	<b>Frame 161</b>	-	148	775	106,704	552,631
32	163	30,894	157,751	181	349	150,253	772,987
66	113	64,396	114,775	345	709	176,749	348,712



<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
347	533	347,738	530,754
498	759	346,951	706,281
1202	287	497,015	755,309
1276	95	1203,27	289,65
<b>Frame 211</b>		<b>Frame 211</b>	-
-	-	29,345	156,435
107	553	106,279	552,508
152	773	149,965	772,663
181	347	177,424	348,622
334	521	332,571	519,116
345	717	345,789	708,742
495	759	494,237	755,348
1206	297	1202,677	297,023
1276	89	-	-
<b>Frame 221</b>		<b>Frame 221</b>	-
107	555	29,493	155,823
180	349	106,79	552,412
334	501	176,918	347,576
351	707	339,608	500,362
495	757	351,066	705,135
1108	899	493,617	754,913
1208	301	1203,879	296,871
<b>Frame 231</b>		<b>Frame 231</b>	-
107	555	107,739	552,496
180	351	178,653	350,186
341	509	340,102	508,347
353	715	350,691	713,065
495	755	492,97	752,896
1110	891	1108,722	891,388
1206	303	1205,065	302,973
<b>Frame 241</b>		<b>Frame 241</b>	-
107	553	105,765	553,924
173	349	175,527	347,765
326	519	324,005	517,674
349	719	350,85	723,628
489	751	491,386	749,48
1114	897	-	-
1210	303	1207,028	304,275
1270	823	1267,063	818,924
<b>Frame 251</b>		<b>Frame 251</b>	-
-	-	28,042	153,478
105	553	105,542	552,752
180	349	174,605	346,552
288	513	287,025	509,88
351	735	349,52	736,457

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
495	751	492,758	747,73
1216	315	1212,6	312,389
1266	819	1268,603	815,842
<b>Frame 261</b>		<b>Frame 261</b>	-
-	-	28,268	152,552
105	557	105,402	552,553
178	347	177,205	347,391
290	513	288,408	511,045
-	-	345,529	746,863
351	39	359,91	37,182
498	753	492,898	746,147
1220	321	1218,472	318,423
1270	821	1271,634	820,874
<b>Frame 271</b>		<b>Frame 271</b>	-
-	-	28,75	157,295
105	553	107,151	552,27
184	349	181,638	347,952
-	-	300,789	523,445
345	33	346,872	32,705
-	-	345,787	749,982
495	747	492,653	745,94
1224	331	1224,77	328,84
1268	811	1268,993	810,427
<b>Frame 281</b>		<b>Frame 281</b>	-
-	-	9,68	80,795
109	555	24,301	160,7
180	351	106,493	552,47
320	511	181,074	347,495
343	35	339,298	35,5
495	749	493,018	744,28
1230	343	1231,739	339,662
1270	817	1267,776	812,396
<b>Frame 291</b>		<b>Frame 291</b>	-
36	165	12,88	100,024
107	553	106,079	553,227
181	349	182,273	346,492
336	37	333,556	37,372
495	743	493,175	743,796
1238	351	1239,909	346,729
1266	813	1265,835	811,223
<b>Frame 301</b>		<b>Frame 301</b>	-
-	-	10,893	98,429
48	157	46,235	154,174
107	555	106,901	552,156
184	349	184,933	347,461

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
330	41	330,72	38,575	-	-	344,094	494,198
398	907	396,295	903,62	411	865	499,716	738,367
498	745	495,187	741,866	528	31	525,239	30,519
947	547	946,912	548,355	630	293	628,621	292,096
1238	351	1237,887	350,803	975	543	974,187	538,984
<b>Frame 311</b>		<b>Frame 311</b>	-	1244	363	1242,735	361,137
111	553	107,813	552,263	1340	379	1337,818	378,565
192	347	186,028	346,052	<b>Frame 351</b>		<b>Frame 351</b>	-
324	45	320,939	41,816	30	109	23,969	107,263
398	909	397,141	903,244	138	547	136,806	542,18
493	739	495,029	742,773	192	341	188,455	342,767
548	21	540,86	21,675	296	51	296,811	51,266
630	257	-	-	417	851	501,385	737,416
969	543	965,905	538,501	524	27	520,176	29,725
1234	353	1238,021	351,242	969	543	971,12	538,399
1332	357	-	-	1242	371	1245,163	364,865
<b>Frame 321</b>		<b>Frame 321</b>	-	1344	393	-	-
123	553	125,214	549,961	<b>Frame 361</b>	-	<b>Frame 361</b>	-
188	349	186,525	346,23	30	117	28,753	111,04
316	43	312,465	44,302	118	551	116,366	549,17
389	903	392,653	897,475	189	345	188,529	343,683
495	745	495,647	737,41	292	55	291,138	52,756
532	25	534,346	25,535	414	859	400,035	864,359
628	271	626,33	272,37	511	733	508,545	735,384
971	535	973,933	534,023	522	27	522,471	29,36
1234	357	1235,958	356,811	969	539	969,992	538,42
1350	365	1344,216	364,59	1256	371	1258,563	373,884
<b>Frame 331</b>		<b>Frame 331</b>	-	1332	393	1333,204	389,112
144	555	13,538	109,601	<b>Frame 371</b>		<b>Frame 371</b>	-
186	345	140,674	547,33	32	111	35,286	114,83
308	49	185,707	345,707	119	549	113,522	549,932
-	-	303,733	47,653	188	351	188,122	348,911
401	889	391,416	885,245	284	55	284,311	54,929
499	739	498,288	741,673	366	523	413,172	869,829
532	23	529,215	27,678	417	875	504,664	733,534
626	287	627,681	285,063	526	33	522,632	29,911
975	537	973,156	537,508	963	547	967,006	546,212
1242	367	1240,685	357,341	1348	427	-	-
1342	359	1342,217	362,424	<b>Frame 381</b>		<b>Frame 381</b>	-
<b>Frame 341</b>		<b>Frame 341</b>	-	44	111	44,734	113,617
-	-	20,024	107,859	109	553	105,682	552,493
150	545	148,847	542,97	196	373	198,498	373,277
189	345	190,045	346,115	272	57	270,31	56,258
296	53	297,302	50,455	359	533	362,732	532,534

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
419	849	424,271	846,936
-	-	508,65	732,815
526	29	523,531	31,476
963	555	964,088	553,439
<b>Frame 391</b>		<b>Frame 391</b>	-
52	115	51,629	114,773
107	555	107,687	552,636
196	375	196,165	373,411
262	57	263,001	56,376
359	547	361,939	542,239
421	857	422,959	854,99
-	-	509,101	714,066
528	31	523,633	32,558
969	563	967,384	559,306
<b>Frame 401</b>		<b>Frame 401</b>	-
54	117	57,54	113,521
109	555	107,098	552,866
197	371	198,266	369,688
255	57	255,996	57,275
-	-	362,595	543,285
430	865	428,045	866,455
524	33	521,292	32,687
975	567	972,101	564,128
<b>Frame 411</b>		<b>Frame 411</b>	-
-	-	58,917	112,32
105	553	107,898	552,106
180	363	177,286	361,104
254	57	252,41	56,613
373	543	371,205	541,116
430	871	435,678	868,985
524	31	522,534	32,314
977	571	974,724	566,127
<b>Frame 421</b>		<b>Frame 421</b>	-
-	-	60,262	108,697
109	553	110,131	552,406
166	361	165,64	359,263
250	59	248,49	56,857
369	521	365,045	518,562
435	873	436,243	870,416
498	697	502,707	692,404
522	33	520,658	33,181
969	575	970,005	571,58
<b>Frame 431</b>		<b>Frame 431</b>	-
64	105	63,718	107,801
107	551	107,606	548,472

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
152	371	147,969	368,721
250	61	248,717	57,867
443	867	441,165	864,499
518	35	518,02	32,526
969	581	968,198	576,847
1358	423	1358,837	423,483
-	-	1365,295	477,957
<b>Frame 441</b>		<b>Frame 441</b>	-
66	107	67,101	105,259
101	543	94,565	548,264
146	379	151,233	374,735
250	61	249,341	59,876
449	847	449,886	843,102
522	33	519,561	34,03
969	581	966,269	581,761
-	-	1331,494	9,467
1356	419	1356,305	417,034
<b>Frame 451</b>		<b>Frame 451</b>	-
76	101	73,07	98,609
-	-	100,898	542,742
252	63	250,535	62,176
451	851	424,012	1002,89
511	21	451,297	848,762
576	367	510,675	18,749
963	583	965,163	580,619
1356	421	1357,05	418,579
<b>Frame 461</b>		<b>Frame 461</b>	-
89	93	88,942	95,117
-	-	99,365	542,756
255	63	255,607	60,389
457	839	433,438	988,421
-	-	456,326	840,766
590	337	535,109	649,769
-	-	588,882	341,341
963	585	964,876	582,884
1354	429	1358,881	424,762
<b>Frame 471</b>		<b>Frame 471</b>	-
95	99	89,25	533,228
264	63	98,022	94,253
-	-	262,194	61,434
465	833	460,823	832,155
590	351	588,891	346,168
967	583	966,468	579,187
1360	425	1360,326	424,537
<b>Frame 481</b>		<b>Frame 481</b>	-

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
-	-	108,052	91,649
268	61	267,238	59,96
465	811	469,106	809,471
588	355	586,052	353,302
971	581	971,904	576,985
1364	431	1362,499	430,091
<b>Frame 491</b>		<b>Frame 491</b>	-
-	-	118,063	89,732
118	91	269,952	58,45
272	61	365,135	1002,33
359	1007	442,03	971,862
456	15	458,191	15,364
469	811	471,163	809,885
586	349	585,513	348,006
983	561	982,83	562,528
1360	437	1361,651	433,561
<b>Frame 501</b>		<b>Frame 501</b>	-
-	-	108,263	505,342
134	91	131,214	87,876
268	55	270,732	54,636
375	999	379,188	997,123
456	29	457,989	25,56
472	815	473,619	814,281
588	361	586,552	360,56
993	557	991,344	553,239
1358	431	1362,152	432,037
<b>Frame 511</b>		<b>Frame 511</b>	-
-	-	110,359	506,453
140	89	137,485	86,282
274	59	274,252	54,834
379	997	381,571	995,615
457	21	457,009	18,622
461	759	461,453	757,139
592	363	588,858	363,75
989	555	989,117	554,133
-	-	1363,677	434,007
<b>Frame 521</b>		<b>Frame 521</b>	-
113	503	112,5	503,887
146	87	141,644	85,573
382	993	382,426	993,942
456	751	457,495	748,015
459	19	459,852	16,881
588	381	1363,023	436,337
997	551	-	-

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
<b>Frame 531</b>		<b>Frame 531</b>	-
118	509	115,651	507,073
150	87	148,468	84,347
-	-	274,054	49,791
385	991	383,115	992,499
463	21	460,31	14,652
465	767	465,33	765,056
1366	439	1361,368	436,33
<b>Frame 541</b>		<b>Frame 541</b>	-
113	501	114,287	500,21
156	89	153,423	82,995
349	29	277,501	49,492
379	999	380,595	994,669
457	15	457,294	12,994
477	795	477,874	793,627
1360	439	1360,311	436,227
<b>Frame 551</b>		<b>Frame 551</b>	-
109	337	-	-
111	503	110,152	504,526
160	85	159,34	81,887
379	999	381,539	994,503
441	11	441,458	12,519
479	815	481,983	813,455
1360	439	1360,813	437,285
<b>Frame 561</b>		<b>Frame 561</b>	-
99	335	-	-
107	505	107,488	502,457
164	85	161,263	81,853
282	55	277,973	50,147
377	999	377,742	998,469
491	823	488,633	823,081
1362	435	1361,641	432,155
<b>Frame 571</b>		<b>Frame 571</b>	-
105	339	-	-
109	501	109,323	499,438
164	85	163,358	82,298
286	51	284,302	50,452
343	39	-	-
373	1011	375,385	1000,95
488	837	487,414	834,138
1362	425	1362,071	427,102
<b>Frame 581</b>		<b>Frame 581</b>	-
118	501	120,3	500,182
164	87	161,893	83,457

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
-	-	-	-
351	41	-	-
499	847	493,907	846,208
1366	419	1363,888	421,258
<b>Frame 591</b>		<b>Frame 591</b>	-
130	497	126,122	495,503
168	87	166,951	82,946
-	-	-	-
488	851	490,122	858,146
1366	415	1363,289	419,53
<b>Frame 601</b>		<b>Frame 601</b>	-
134	495	126,744	491,975
164	87	165,918	84,483
489	853	489,825	855,093
1360	417	1363,427	414,988
<b>Frame 611</b>		<b>Frame 611</b>	-
-	-	129,987	486,982
164	85	164,866	82,136
377	1005	385,491	1000,58
489	845	487,342	843,214
-	-	595,9	280,464
600	279	619,552	604,874
1362	413	1362,075	410,631
<b>Frame 621</b>		<b>Frame 621</b>	-
138	489	170,11	81,411
172	89	381,982	999,694
379	1001	491,591	838,897
495	841	590,783	304,807
594	301	619,418	605,954
1358	411	1356,504	410,32
<b>Frame 631</b>		<b>Frame 631</b>	-
140	483	168,111	76,909
172	79	380,869	999,678
377	1001	496,854	836,355
499	835	579,969	310,109
-	-	618,492	605,399
1362	423	1360,533	424,525
<b>Frame 641</b>		<b>Frame 641</b>	-
78	363	382,797	999,067
377	999	501,385	837,079
509	839	576,46	308,601
-	-	618,219	606,706
1362	445	1362,716	438,616
<b>Frame 651</b>		<b>Frame 651</b>	-
84	341	384,089	999,57

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
176	77	501,382	848,283
379	995	574,211	310,863
507	855	618,698	606,048
1226	137	1230,178	133,515
1360	451	1359,42	450,486
<b>Frame 661</b>		<b>Frame 661</b>	-
87	321	304,832	45,558
308	53	382,24	1001,94
383	1009	507,097	854,631
511	855	573,673	304,232
-	-	617,508	605,367
1226	129	1224,518	130,078
1356	455	1351,647	457,637
<b>Frame 671</b>		<b>Frame 671</b>	-
91	315	90,147	310,197
302	47	304,063	45,939
387	1003	383,94	1001,64
520	865	513,24	867,068
574	295	575,552	294,899
-	-	618,587	605,247
1164	539	1156,665	537,969
1222	129	1222,203	129,65
1344	467	1342,767	468,622
<b>Frame 681</b>		<b>Frame 681</b>	-
99	307	97,866	308,099
-	-	380,573	1003,36
-	-	510,78	882,073
-	-	588,059	282,831
1158	537	1154,315	537,436
1218	131	1216,987	130,518
1334	481	1329,955	477,068
<b>Frame 691</b>		<b>Frame 691</b>	-
89	307	-	-
-	-	169,542	72,943
306	43	328,744	28,446
377	1003	378,712	1001,19
-	-	515,137	879,701
-	-	590,551	270,385
1154	535	1149,469	534,578
1214	133	1210,918	131,76
-	-	1321,905	490,51
<b>Frame 701</b>		<b>Frame 701</b>	-
-	-	322,469	26,392
382	993	380,178	995,389
-	-	593,399	257,177

<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>		<i>Ground Truth</i>		<i>Método 3</i>	
<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
1154	533	1146,314	531,813	-	-	306,504	44,181
-	-	1209,528	129,44	-	-	502,245	911,867
-	-	1325,581	492,319	-	-	949,024	558,459
Frame 711		Frame 711	-	1310	529	1309,187	529,616
306	41	322,212	26,188	Frame 791		Frame 791	-
1150	533	1143,52	534,093	316	41	304,606	44,25
1204	129	1207,067	127,701	501	907	500,469	913,599
1312	503	1312,907	503,154	1346	555	-	-
Frame 721		Frame 721	-	Frame 801		Frame 801	-
-	-	172,254	75,318	379	985	301,502	42,3
-	-	322,54	22,024	-	-	508,195	911,279
-	-	527,889	883,894	Frame 811		Frame 811	-
-	-	596,247	246,467	302	43	299,844	40,844
1148	531	1144,336	530,175	391	985	513,341	911,358
1204	133	1203,646	128,294	1320	537	513,341	911,358
1316	509	1312,451	507,872	Frame 821		Frame 821	-
Frame 731		Frame 731	-	387	987	305,345	40,925
-	-	321,762	23,158	1308	525	514,607	915,407
-	-	533,05	883,091	Frame 831		Frame 831	-
-	-	590,7	249,587	389	973	516,64	916,87
1136	515	1133,759	513,368	1308	527	-	-
1196	133	1196,972	131,204	Frame 841		Frame 841	-
1314	511	1312,752	513,13	-	-	305,525	42,147
Frame 741		Frame 741	-	-	-	519,165	914,719
-	-	317,886	29,363	526	909	1297,1	518,273
1198	129	532,824	883,901	1292	517	1322,169	555,684
1308	517	1310,546	515,307	Frame 851		Frame 851	-
Frame 751		Frame 751	-	218	77	-	-
184	77	317,726	34,18	-	-	521,066	915,994
1196	129	525,164	891,586	524	917	1286,75	509,088
1320	521	1311,318	519,878	1286	513	1317,097	555,178
Frame 761		Frame 761	-	Frame 861		Frame 861	-
-	-	317,329	37,128	214	79	215,542	76,182
-	-	518,921	895,655	522	919	521,994	919,23
1324	517	1315,258	518,398	1292	499	1292,783	498,841
Frame 771		Frame 771	-	1292	499	1315,371	548,735
-	-	315,434	37,354	Frame 871		Frame 871	-
-	-	510,071	902,158	218	81	299,217	34,983
1314	527	1314,48	524,957	-	-	530,022	921,316
Frame 781		Frame 781	-	1286	481	1288,528	490,945

Tabla 6.- Centros detectados en el vídeo sin fondo (Método 3) tras segmentación



## 4.2 Seguimiento de células

Se ha realizado una comparativa entre los diferentes métodos para determinar el número de células detectadas en cada *frame*, tomando muestras cada 10 *frames*, respecto a la Ground Truth la cual se ha obtenido manualmente. La Figura 4-1 representa los valores obtenidos en la tabla 7.

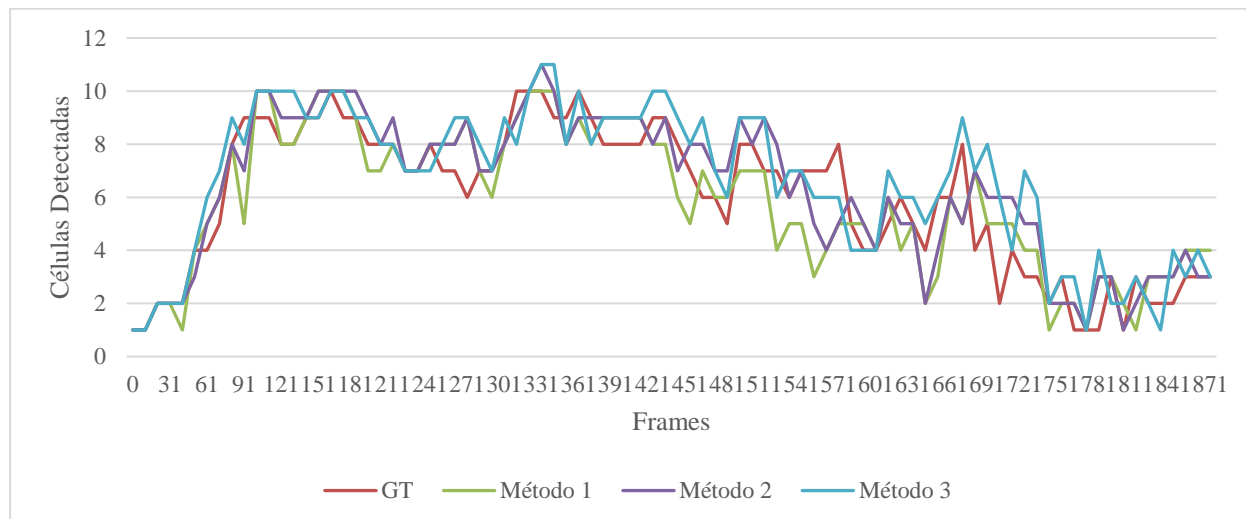


Figura 4-1 Número de células detectadas por *frame*

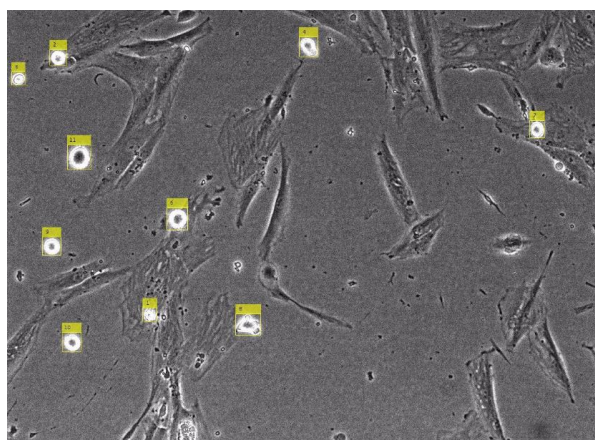
Se puede observar que la gráfica que más se aproxima a la verdad de referencia se obtiene con el vídeo que utiliza la Combinación de Gradientes para la sustracción del fondo, consiguiendo un 86.36% de acierto.

	<b>Acierto</b>
Método 1: Filtro de Entropía	68.18%
Método 2: Combinación de Gradientes	86.36%
Método 3: Transformada Wavelet	81.82%

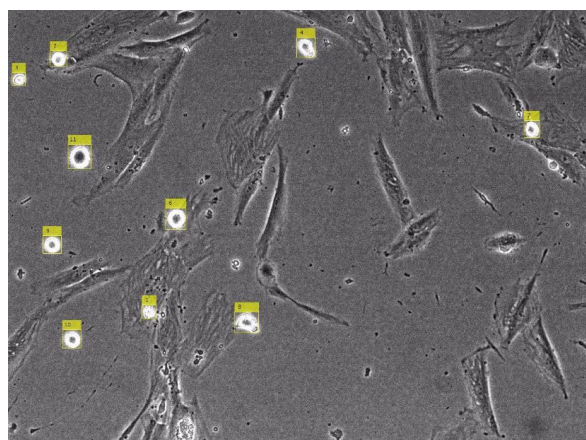
Tabla 7.- Porcentaje de acierto en el número de células detectadas por *frame*

Deducimos de estos resultados, que el algoritmo es eficaz para el objetivo del trabajo.

Vemos una muestra de los resultados en la Figura 4-2 y la Figura 4-3. Hemos escogido franjas del vídeo, con 6 imágenes consecutivas la primera, de forma que se pueda apreciar el seguimiento.



(a)



(b)

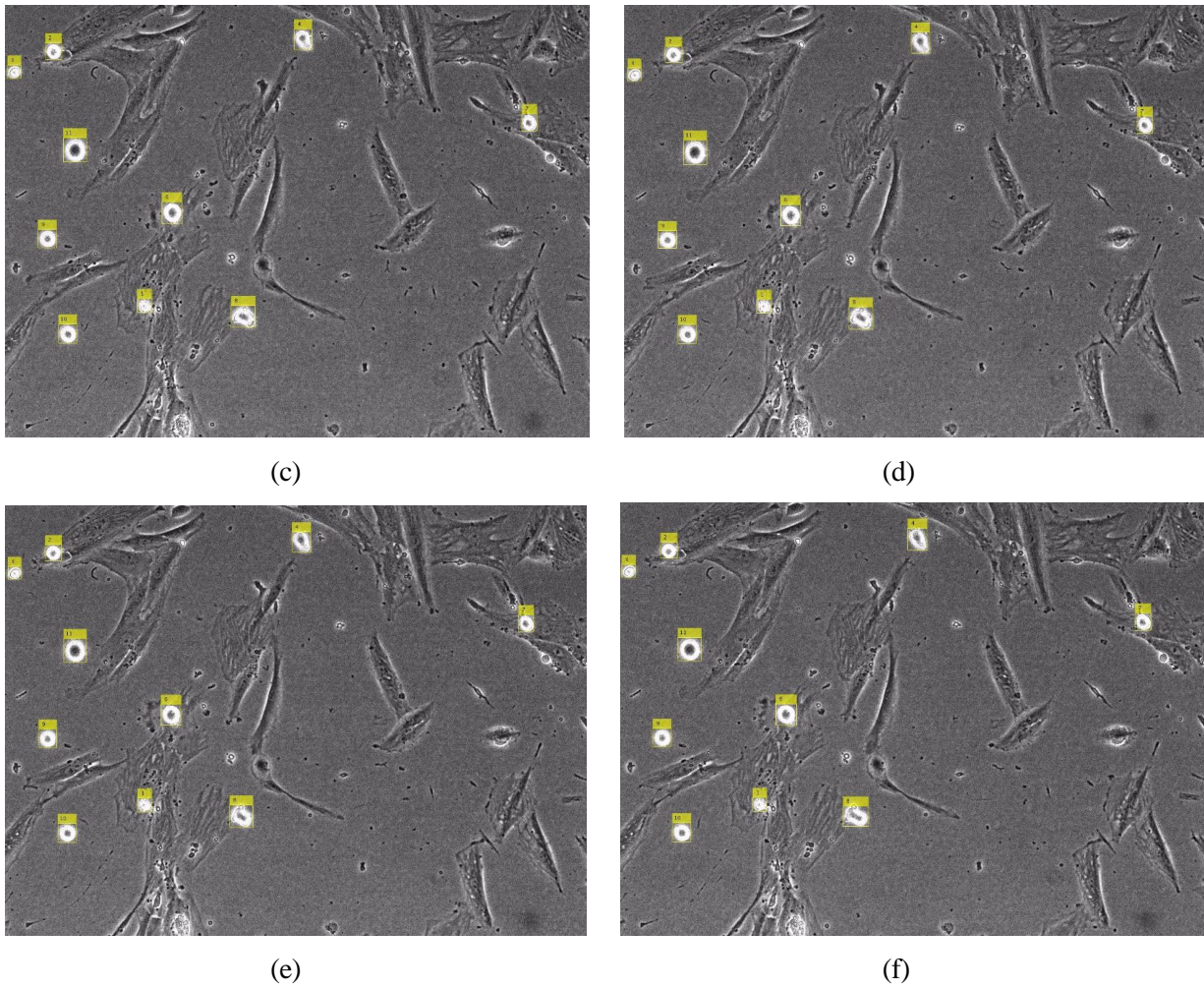
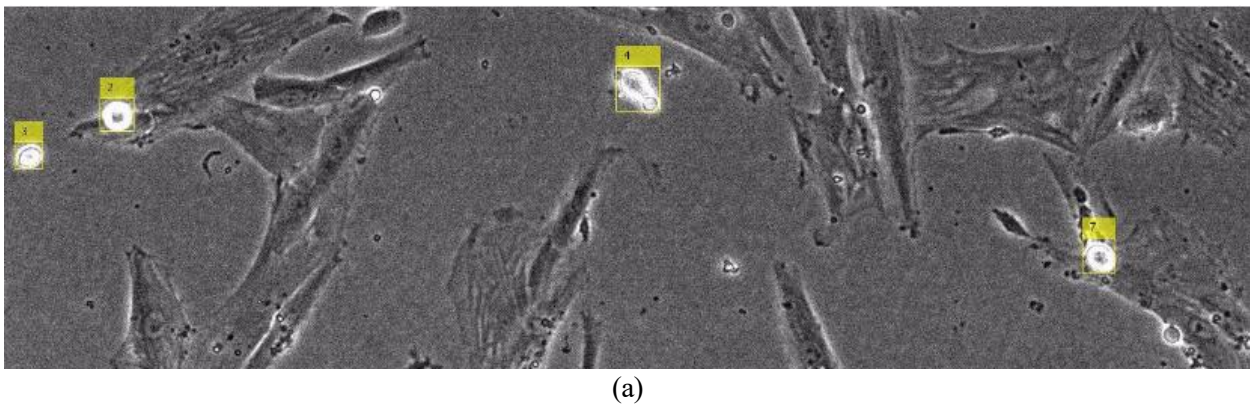
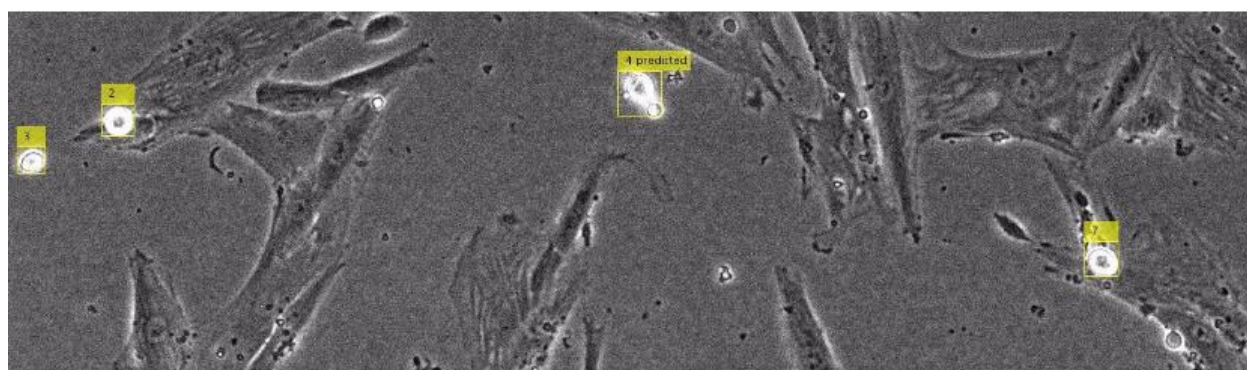


Figura 4-2 Imágenes resultado utilizando el método de sustracción de fondo 2; (a) Frame 104, (b) Frame 105, (c) Frame 106, (d) Frame 107, (e) Frame 108, (f) Frame 109

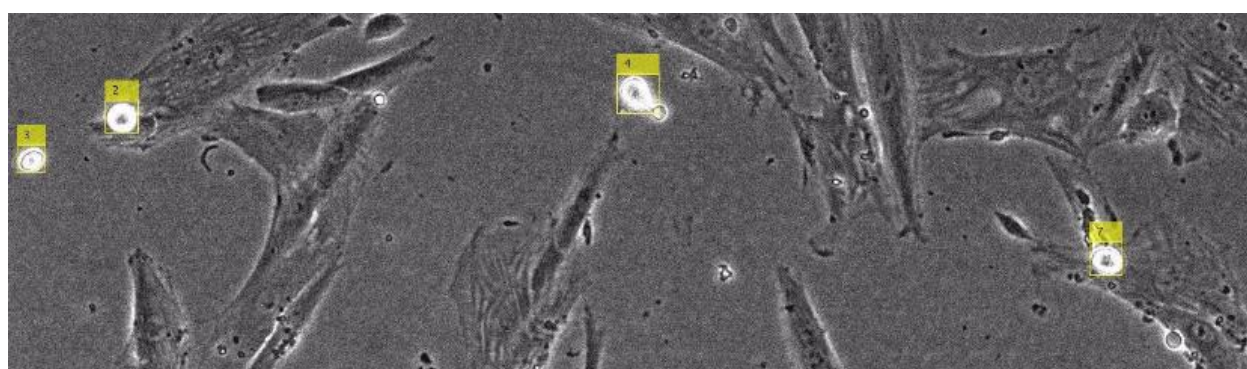
En la Figura 4-3, podemos comprobar un seguimiento correcto, aunque a partir de (b) podemos observar como una de las células centrales, con identificador 4, sigue siendo reconocida después de haber desaparecido. De hecho, en la etiqueta aparece la palabra *predicted*, lo que quiere decir que no existe detección durante la segmentación, pero el filtro del Kalman la incluye en su predicción.







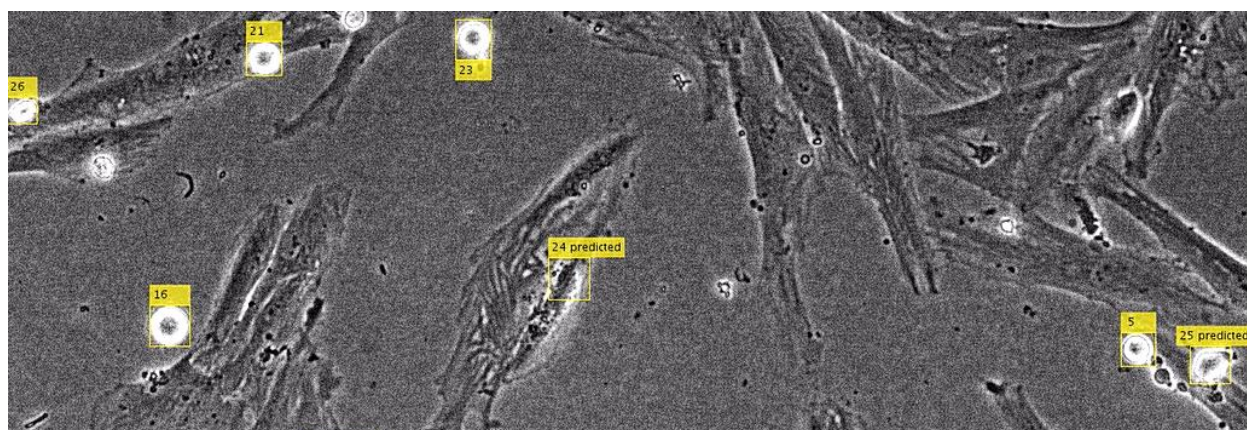
(b)



(c)

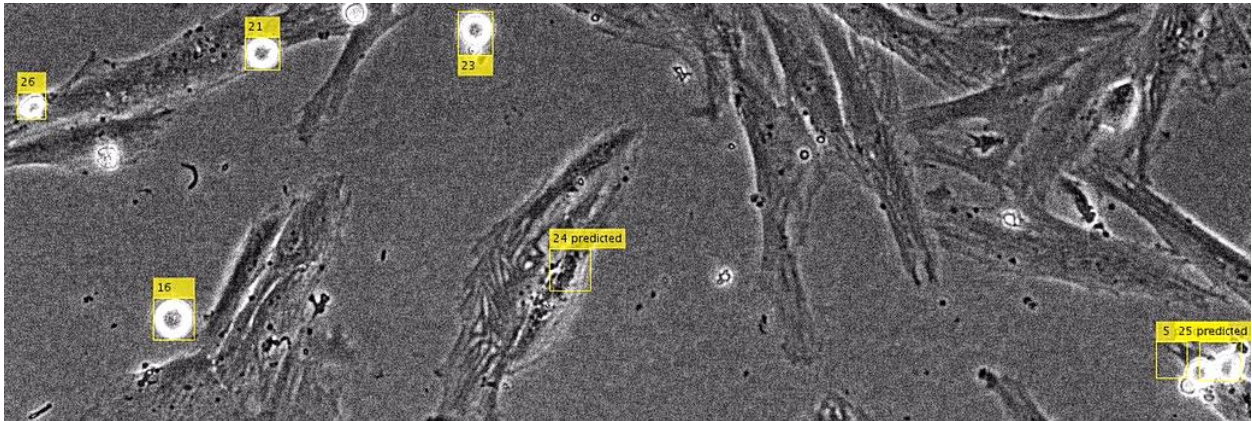
Figura 4-3 Imágenes resultado utilizando el método de sustracción de fondo 3; (a) Frame 76, (b) Imagen 77, (c) Frame 85

Por otro lado, existe otro fenómeno que se muestra en la Figura 4-4, y es la pérdida de seguimiento de una célula que estaba siendo detectada por que sale de la pantalla o se vuelve muy pequeña. El método más vulnerable a este problema es el 1, como se indica en la Tabla 7. Esto no perjudica en los resultados ya que no se tienen en cuenta en el cómputo de todos los tiempos y la media.

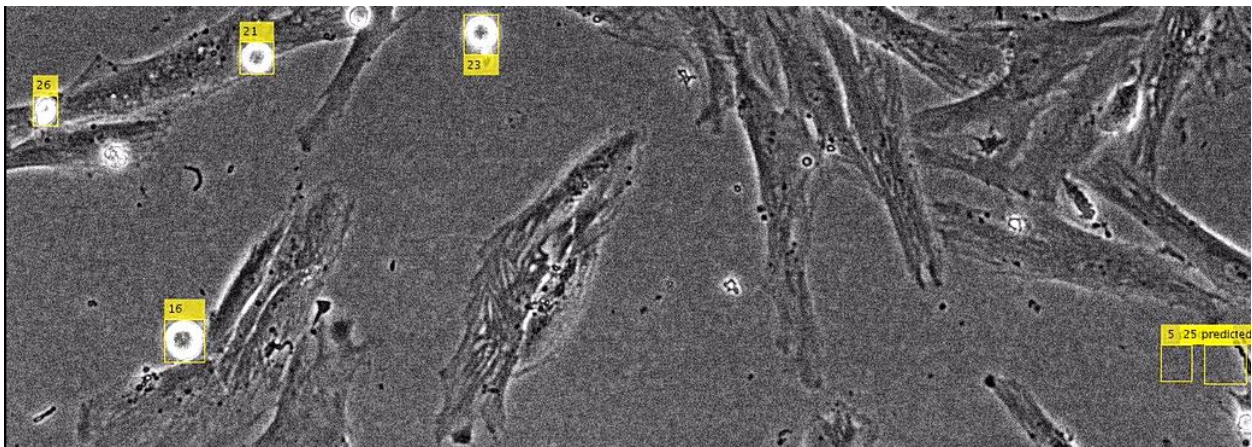


(a)





(b)



(c)

Figura 4-4 Imágenes resultado utilizando el método de sustracción de fondo 1; (a) Frame 366, (b) Imagen 370, (c) Frame 375

Frame	GT	Met 1	Met 2	Met 3
0	1	1	1	1
11	1	1	1	1
21	2	2	2	2
31	2	2	2	2
41	2	1	2	2
51	4	4	3	4
61	4	5	5	6
71	5	6	6	7
81	8	8	8	9
91	9	5	7	8
101	9	10	10	10
111	9	10	10	10
121	8	8	9	10
131	8	8	9	10
141	9	9	9	9
151	9	10	10	9
161	10	10	10	10
171	9	10	10	10

Frame	GT	Met 1	Met 2	Met 3
181	9	9	10	9
191	8	7	9	9
201	8	7	8	8
211	8	8	9	8
221	7	7	7	7
231	7	7	7	7
241	8	8	8	7
251	7	8	8	8
261	7	8	8	9
271	6	9	9	9
281	7	7	7	8
291	7	6	7	7
301	8	8	8	9
311	10	9	9	8
321	10	10	10	10
331	10	10	11	11
341	9	10	10	11
351	9	8	8	8

Frame	GT	Met 1	Met 2	Met 3	Frame	GT	Met 1	Met 2	Met 3
361	10	9	9	10	621	6	4	5	6
371	9	8	9	8	631	5	5	5	6
381	8	9	9	9	641	4	2	2	5
391	8	9	9	9	651	6	3	4	6
401	8	9	9	9	661	6	6	6	7
411	8	9	9	9	671	8	5	5	9
421	9	8	8	10	681	4	7	7	7
431	9	8	9	10	691	5	5	6	8
441	8	6	7	9	701	2	5	6	6
451	7	5	8	8	711	4	5	6	4
461	6	7	8	9	721	3	4	5	7
471	6	6	7	7	731	3	4	5	6
481	5	6	7	6	741	2	1	2	2
491	8	7	9	9	751	3	2	2	3
501	8	7	8	9	761	1	2	2	3
511	7	7	9	9	771	1	1	1	1
521	7	4	8	6	781	1	3	3	4
531	6	5	6	7	791	3	3	3	2
541	7	5	7	7	801	1	2	1	2
551	7	3	5	6	811	3	1	2	3
561	7	4	4	6	821	2	3	3	2
571	8	5	5	6	831	2	3	3	1
581	5	5	6	4	841	2	3	3	4
591	4	5	5	4	851	3	4	4	3
601	4	4	4	4	861	3	4	3	4
611	5	6	6	7	871	3	4	3	3

Tabla 8.- Número de células detectadas por *frame*

### 4.3 Tiempo de ciclo celular

Los resultados obtenidos de la matriz de tiempos  $T$ , en número de *frames*, para cada método son los mostrados en la Tabla 7. Como se indica en el apartado 3.5 se ha calculado el tiempo medio sin diferenciar si es muerte por apoptosis o necrosis.

Calculamos la media del tiempo en el que la célula es redonda u ovalada hasta que se deforma:

$$\begin{aligned} \text{Media método1} &= 141.5 \text{ frames} \\ \text{Media método2} &= 144 \text{ frames} \\ \text{Media método3} &= 153.083 \text{ frames} \end{aligned}$$

También se ha calculado el tiempo en el que la célula se deforma hasta que desaparece, para ello utilizamos solo aquellas filas cuyo valor de la columna  $FD$  sea distinto de 0, ya que en ese caso el método la pierde durante el seguimiento por que sale de la pantalla o se vuelve muy pequeña.

$$\begin{aligned} \text{Media método1} &= 31.91 \text{ frames} \\ \text{Media método2} &= 21.58 \text{ frames} \\ \text{Media método3} &= 39.58 \text{ frames} \end{aligned}$$

<i>Método 1</i>				<i>Método 2</i>				<i>Método 3</i>			
<b>Cell</b>	<b>F1</b>	<b>FN</b>	<b>FD</b>	<b>Cell</b>	<b>F1</b>	<b>FN</b>	<b>FD</b>	<b>Cell</b>	<b>F1</b>	<b>FN</b>	<b>FD</b>
1	1	272	275	1	1	275	286	1	1	275	295
2	16	185	0	2	16	186	0	2	17	188	0
3	54	196	218	3	54	197	218	3	54	197	218
4	56	281	449	4	56	281	0	4	56	283	0
5	59	375	0	5	59	287	449	5	60	289	326
6	70	412	0	6	69	471	492	6	70	475	0
7	81	629	0	7	81	477	0	7	84	473	0
8	84	221	242	8	85	221	242	8	86	221	242
9	91	321	0	9	93	321	0	9	103	451	470
10	103	449	469	10	103	449	470	10	231	239	258
11	226	238	259	11	226	238	259	11	240	301	321
12	241	301	322	12	241	301	322	12	300	527	547
13	265	548	0	13	265	536	0	13	312	456	0
14	300	525	545	14	309	473	0	14	317	357	0
15	309	449	0	15	315	350	370	15	317	350	370
16	316	350	370	16	317	351	0	16	465	521	0
17	461	521	542	17	454	584	0	17	610	737	758
18	503	529	0	18	461	521	0	18	651	735	755
19	610	738	759	19	615	644	758	19	674	684	0
20	676	734	759	20	650	759	780	20	675	734	755
21	841	575	0	21	675	738	759	21	841	575	0

Tabla 9.- Tiempo de ciclo celular

---

## 5 CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS

---

*Hasta el infinito y más allá..*

*- Buzz Lightyear-*

**T**ras analizar todos los resultados obtenidos para los diferentes métodos de sustracción de fondo presentados en la memoria se puede concluir que:

- El preprocesamiento de imágenes nos proporciona información muy importante y decisiva para el funcionamiento del algoritmo.
- El resultado de la segmentación común determina la fiabilidad de los diferentes métodos de sustracción de fondo desarrollados.
- Si se tuviera que elegir entre uno de los tres métodos para obtener una correcta estimación de tiempo del ciclo celular, el que mejor resultado ha proporcionado ha sido el de Combinación de Gradientes. La segunda opción sería el método que utiliza la Transformada Wavelet, ya que los resultados obtenidos experimentalmente en el seguimiento de las células a lo largo del vídeo son muy positivos. Y descartaría el método de los Filtros de Entropía ya que se alejan mucho de la verdad de referencia.

En consecuencia, se ha demostrado que la implementación de algoritmos básicos ha cumplido los objetivos del trabajo. Como líneas futuras se podría plantear:

- Probar el algoritmo con más vídeos de muestras celulares para verificar la fiabilidad de los diferentes métodos de sustracción de fondo presentados en este proyecto.
- Realizar un preprocesamiento más innovador para la sustracción del fondo con el fin de verificar si aportan mayor calidad teniendo en cuenta la carga computacional.
- Idear un algoritmo más complejo que diferencie si la muerte celular sea por apoptosis o necrosis.

## REFERENCIAS

- [1] John D. Enderle y Joseph D. Bronzino, *Introduction to Biomedical Engineering*, Academic Press, 7th March 2011.
- [2] Saban Öztürk y Bayram Akdemir, «Phase classification of mitotic events using selective dictionary learning for stem cell populations,» *Computers and Electrical Engineering*, 2018, p. 25–37.
- [3] R. A. Española, «RAE,» Actualización 2017. [En línea]. Available: <http://dle.rae.es/?id=5Ykv4ay>. [Último acceso: Noviembre 2018].
- [4] G. Adolfo Elena y Rosario, «Anestesia. Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de Rosario,» [En línea]. Available: [https://www.anestesia.org.ar/search/articulos\\_completos/1/1/284/c.php](https://www.anestesia.org.ar/search/articulos_completos/1/1/284/c.php).
- [5] Annemarie Brüel, Erik Ilsø Christensen, Jørgen Trantum-Jensen, Klaus Qvortru, Finn Geneser, «Histología», Dinamarca: Panamericana, 2015, p. 768.
- [6] P. Michael H. Ross y M. Wojciech Pawlina, «Histología: Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular», Estados Unidos: Panamericana, 2008.
- [7] F. Zernike, «Phase-contrast, a new method for microscopic observation of transparent objects. Part II,» vol. 9, pp. 974-986, 1942.
- [8] «<http://www3.uah.es/daviddiaz/Apoptosis/caracteristicas.htm>,» [En línea]. [Último acceso: 2019].
- [9] G. A. E. y Rosario, «Anestesia.org,» Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de Rosario, [En línea]. Available: [https://www.anestesia.org.ar/search/articulos\\_completos/1/1/284/c.php](https://www.anestesia.org.ar/search/articulos_completos/1/1/284/c.php). [Último acceso: 2019].
- [10] «iberica.es,» [En línea]. Available: <https://www.pce-iberica.es/instrumentos-de-medida/instrumentos-laboratorios/microscopia.htm>. [Último acceso: 2019].
- [11] D. J. N. Armas, «Apuntes electrónicos de Histología, técnicas de microscopía,» Universidad de los Andes, 2019. [En línea]. Available: [http://www.medic.ula.ve/histologia/anexos/microscopweb/MONOWEB/capitulo6\\_1.htm](http://www.medic.ula.ve/histologia/anexos/microscopweb/MONOWEB/capitulo6_1.htm).
- [12] «Departamento de Biodiversidad y Biología experimental,» Universidad de Buenos Aires, 2019. [En línea]. Available: <http://www.dbbe.fcen.uba.ar/objetos/histologia-animal-comparada-tecnicas-basicas->

para-microscopia-optica-y-electronica-P181.html.

- [13] «HISTOLOgIA,» 2019. [En línea]. Available: [http://www.medic.ula.ve/histologia/anexos/microscopweb/MONOWEB/capitulo6\\_5.htm](http://www.medic.ula.ve/histologia/anexos/microscopweb/MONOWEB/capitulo6_5.htm).
- [14] «dea.unsj.edu.ar,» [En línea]. Available: <http://dea.unsj.edu.ar/imagenes/recursos/Capitulo1.pdf>. [Último acceso: 2019].
- [15] mathworks, 2019. [En línea]. Available: <https://es.mathworks.com/discovery/edge-detection.html>.
- [16] U. p. d. Valencia, «Tratamiento de imágenes digitales mediante wavelets,» [En línea]. Available: <http://www.upv.es/frechet/wavelets/imagenes/indice.htm>.
- [17] S. Kouro R y R. Musalem M, «Técnicas Modernas en Automática,» de *Tutorial introductorio a la Teoría de Wavelet*.
- [18] S. B. Vadillo, «bibing.us.es,» [En línea]. Available: <http://bibing.us.es/proyectos/abreproy/11511/fichero/PFC+Silvia+Blasco+Vadillo%252FCap%C3%ADulo+9+-+Anexo+2.pdf+..>
- [19] B. A. y. C. Serrano, Apuntes de Fundamentos de Procesamiento de Imagen, Universidad de Sevilla, 2017.
- [20] «mathworks,» [En línea]. Available: <https://es.mathworks.com/help/images/morphological-filtering.html>.
- [21] «mathworks,» mathworks, 2019. [En línea]. Available: <https://es.mathworks.com/help/images/ref/regionprops.html>.
- [22] A. Yilmaz, «Object Tracking by Asymmetric Kernel Mean Shift with Automatic Scale and Orientation Selection,» IEE: Computer Vision and Pattern Recognition, 2017.
- [23] O. J. a. M. S. ilmaz, «Object tracking: A survey,» *ACM Comput*, nº 13, 2006.
- [24] H. M. y. Z. Y. Yangxu Wang, «Stem cell motion-tracking by using deep neural networks with multi-output,» *Neural Computing and Applications*, 2017.
- [25] F. d. Kalman. [En línea]. Available: <https://es.mathworks.com/discovery/filtros-kalman.html>. [Último acceso: 2019].
- [26] E. d. S. c. F. d. Kalman, 2018. [En línea]. Available: <https://es.mathworks.com/help/vision/examples/motion-based-multiple-object-tracking.html>.





