

TÍTULO DO PLANO DE TRABALHO:

Aplicação de Visão Computacional para Detecção de estruturas de identificação de larvas de moscas de importância forense.

ORIENTADOR: Prof. Hemerson Pistori – rf 2987 e-mail: pistori@ucdb.br

COORIENTADORA: Ariadne Gonçalves

RESUMO

As larvas de moscas são utilizadas para estimar o intervalo *post-mortem* (IPM) através do seu tempo de desenvolvimento na Entomologia Forense. A identificação de larvas constitui o primeiro passo para a prática forense e a consequentemente a estimativa do IPM. As descrições de larvas possuem uma grande variação de características utilizadas dificultando a identificação. Neste plano de trabalho, objetiva-se validar um programa de computador, capaz de realizar a identificação de imagens microscópicas de estruturas de larvas necrofágicas, utilizando a visão computacional, e que possam ser utilizadas na identificação em perícia criminal.

1) Antecedentes e justificativas

O objetivo da visão computacional é automatizar a tomada de decisões úteis sobre objetos físicos e cenas reais com base em imagens detectadas (Shapiro; Stockam, 2001). Segundo Yang e Gillies (2008) visão computacional é exatamente o oposto da computação gráfica. Os processos em computação gráfica iniciam com uma descrição funcional, e terminam com uma imagem de representação. Neste caso, a imagem possui as informações completas, assim, a maior parte dos problemas é de natureza algorítmica. Na visão computacional não se tem a informação completa. Consequentemente deve ser usado o domínio específico de conhecimento, suposições ou heurísticas para alcançar o objetivo.

O campo da visão computacional é dedicado à descoberta de algoritmos de como representar uma determinada imagem, existem também os algoritmos que melhoram a imagem captada, como por exemplo, a diminuição de ruído, eliminação de sombras, detecção das bordas do objeto, dentre outros. Após o melhoramento da imagem, segue-se a parte de segmentação do objeto, que consiste na utilização de programas específicos para manipulação de imagem que faz recortes automáticos ao redor do objeto de interesse. A segmentação da imagem é uma das partes mais importantes em visão computacional, pois se a imagem for segmentada de maneira errônea, as partes seguintes do reconhecimento de imagem serão comprometidas.

A extração de pontos de interesse na imagem é feita por algoritmos específicos como, por exemplo, o SURF que detecta um ponto de interesse em objeto e o descreve formando assim uma coleção de vetores de cada imagem, gerando assim um dicionário visual. Como este processo gera-se muitos pontos de interesse em cada imagem, o que pode dificultar a utilização do software. Para diminuir a quantidade de pontos de interesse é primeiramente definido qual será o tamanho do vocabulário que é o K do algoritmo K-means, então este algoritmo será responsável por encontrar os pontos médios entre os vocabulários e criar assim um agrupamento dos conjuntos dos vetores mais similares entre si que foram extraídos de cada imagem, essas médias de vetores constitui então as palavras do vocabulário.

As palavras utilizadas pela técnica de “Bag-of-words” são derivadas do algoritmo “K-means”, então quando chega uma imagem nova os pontos de interesse são extraídos para se gerar um vetor, então o “Bag-of-words” consegue identificar de qual palavra o novo vetor tem maior afinidade, então ele procura os pontos mais semelhantes entre si através de um histograma das palavras código. Então quando o “Bag-of-words” precisa classificar um novo vetor ele busca em sua biblioteca aquele vetor que é o mais próximo daquele apresentado, que é um treinamento realizado através da aprendizagem de máquina.

2) OBJETIVOS

Objetivo Geral

Validar um programa de computador, capaz de realizar a identificação de imagens microscópicas de estruturas de larvas necrofágicas, utilizando a visão computacional.

Objetivos Específicos

2. Criação de um banco de imagens com as estruturas;
3. Aplicação de técnicas de visão computacional e áreas afins para realização de reconhecimento dos espiráculos;
4. Correlação dos resultados obtidos com o conhecimento de especialistas em entomologia e pessoas inexperientes nesta área e validar com os resultados obtidos com o programa de computador.
5. Proteger o programa de computador

3) REVISÃO DE LITERATURA

As moscas da família Calliphoridae apresentam distribuição mundial. Existem mais de 1000 espécies e cerca de 150 gêneros reconhecidos. Mais de 40 espécies em 30 gêneros são restritos ao Velho Mundo. Na região Afrotropical existe uma fauna rica com aproximadamente 300 espécies distribuídas em 40 gêneros (Shewell, 1987). Os dípteros califorídeos são insetos holometábolos apresentando os seguintes estágios de desenvolvimento: ovo, larvas (primeiro (L1), segundo (L2) e terceiro (L3) ínstar), pupa e adulto (Shewell, 1987). Os adultos podem ser ovíparos ou vivíparos (Mello, 2003). Os adultos são de tamanho médio, coloração metálica azulada, esverdeada, violácea ou cúprea, com exceção da subfamília Mesembrinellinae.

Em geral as larvas têm aspecto vermiforme e apresentam as seguintes características: corpo cilíndrico, região anterior mais afilada que a posterior, esta com três tubérculos na superfície dorsal e ventral que são restritos à porção terminal do último segmento abdominal e um par de espiráculos anteriores e posteriores.

Os califorídeos têm relevante importância médica-veterinária, sanitária e sócioeconômica. Do ponto de vista médico-veterinário, algumas espécies são responsáveis pelo ataque ao tecido vivo de hospedeiros vertebrados de sangue quente; suas larvas histiófagas produzem lesões denominadas de miíases, conhecidas popularmente por “bicheiras” podendo ocorrer também pseudomiíases caracterizadas pelo ataque ao tecido vivo, com ou sem manifestações patológicas.

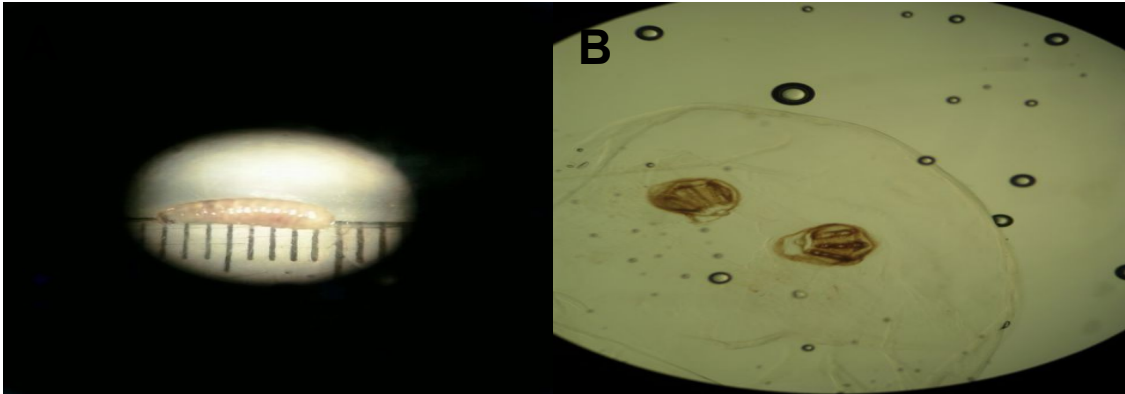
No aspecto sanitário, os adultos, por terem elevado grau de sinantropia, freqüentam diversos substratos alimentares podendo transmitir mecanicamente agentes patogênicos e as larvas desenvolvem-se em fezes, lixos e alimentos frescos (Guimarães & Papavero, 1999).

Como aspectos positivos, os adultos desta família participam da polinização de determinados tipos de plantas (Prins, 1982; Silva *et al.*, 2001). Na fase imatura, as larvas de algumas espécies podem ser utilizadas na medicina, por exemplo, no tratamento de feridas necrosadas (Sherman *et al.*, 2000); são importantes agentes de decomposição de matéria orgânica vegetal e animal, eliminando do ambiente carcaças em estágio de decomposição e na medicina-legal contribuem para estimar o intervalo *post mortem* (IPM) pela Entomologia Forense (Catts & Goff, 1992).

As fases de decomposição de um cadáver (estágio fresco, inchamento, decomposição ativa e esqueletização) atraem diferentes tipos de insetos (Turner, 1991). Para os insetos a carcaça é um recurso efêmero. Smith (1986) identificou quatro categorias associadas à decomposição: (a) espécies necrófagas, são aquelas que colonizam a carcaça e as larvas desenvolvem-se nela, consumindo-a. É o grupo mais importante para a Entomologia Forense; (b) onívoros, se alimentam tanto da carcaça como da fauna associada; (c) predadores e parasitóides e (d) acidentais, utilizam a carcaça como extensão do seu hábitat.

4) METODOLOGIA

Para capturar as imagens dos grãos dos espiráculos (Figura 1) será utilizado um microscópio digital LCD micro Bresser com lentes de aumento de 40X que faz a captura das imagens da lâmina microscópica (100 campos) e que através do cartão de memória são transferidas para um laptop onde estará instalado o programa de computador de identificação que é dotado de um módulo que faz o pré-processamento da imagem para redução de ruídos, segmenta e isolar as regiões contendo os grãos do espiráculo para reconhecimento dos padrões que identifica as diferentes espécies.



1- Morfologia geral da larva de terceiro ínstar do morfotipo 2. A: larva de terceiro instar; B: espiráculos posteriores mostrando abertura espiracular; e espiráculo posterior com peritrema completo.

6.3. Módulo de identificação de estruturas de identificação em larvas de moscas

Serão capturadas 30 imagens de cada estrutura em diferentes posições, para o treinamento do programa de computador no reconhecimento de um determinado espiráculo por vários ângulos e independente da posição que o espiráculo se encontre.

As imagens captadas dos campos da lâmina serão transferidas para um laptop e feita a segmentação da imagem usando o programa Photoshop de maneira que em cada imagem permaneça somente os espiráculos identificados.

Como os espiráculos possuem um padrão de forma e pontos de interesse o programa de computador a ser desenvolvido possui um módulo baseado em Visão Computacional que será utilizado para reconhecer a forma dos espiráculos nas imagens, com aplicação das técnicas de pré-processamento e segmentação como descritos nos tópicos a seguir:

1. O pré-processamento consiste em transformar a imagem capturada em outra imagem melhorada, ou seja, visa melhorar a qualidade da imagem apresentada anteriormente. Exemplificando, a imagem pode ser trabalhada quanto a sua nitidez, ruído, distorção, brilho, contraste, cores, dentre outras formas de melhorar a imagem.

2. A segmentação é a transformação da imagem em uma escala reduzida de informações que tem por objetivo reduzir ao máximo as informações desnecessárias da imagem para as etapas posteriores. Este módulo realça e separa os espiráculos que podem estar muito próximos e tenta elimina o ruído da imagem, deixando somente o espiráculo. Este procedimento tem a finalidade de evitar possíveis enganos do classificador quando a mudança de gradiente da imagem.

3. A extração de atributos da imagem será feita através do algoritmo SURF que detecta e descreve os pontos de interesse na imagem. Após a detecção do espiráculo ocorre a extração de um ou vários pontos de interesse da imagem. No passo de aprendizagem automática do algoritmo é realizada a automatização da identificação dos espiráculos que possuem visão tridimensional, sendo que primeiramente é fornecido ao algoritmo 30 imagens de várias visões de um determinado espiráculo para que ele possa extrair todos os pontos de interesse das imagens.

4. Posteriormente os atributos de cada espécie do espiráculo são apresentados ao “Bag-of-words” que fará a extração dos atributos com mais afinidades entre si e então formará um histograma dos vetores em que a imagem possui maior afinidade.

5) CRONOGRAMA (2014-2015)

As atividades relacionadas a este plano trabalho serão realizada, de agosto de 2014 a julho de 2015, além do acompanhamento de revisão bibliográfica, análise dos dados obtidos e redação de trabalhos científicos para publicação.

6) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DOREA, Luiz Eduardo Carvalho, et AL. Criminalística. Ed. Millennium. 2ª edição. 2003.

CROCE, Delton. Delton Croce Júnior. Manual de Medicina Legal. Ed. Saraiva. 8ª edição. 2012.

JESUS, Damásio. Código Penal anotado. Ed. Saraiva. 22ª edição. 2013.

MOUGENOT, Edilson Bonfim. Curso de Processo Penal. Ed. Saraiva. 8ª edição. 2013.

DEL-CAMPO, Eduardo Roberto Alcântara. Medicina Legal II. Ed. Saraiva. 2ª edição. 2012.

OLIVEIRA-COSTA, Janira. Entomologia Forense. Ed. Millenium. 1ª edição. 2003.

SILVA NETTO, Amílcar da Serra. Manual de atendimento a locais de morte violenta. Ed. Gráfica Oficial do Estado de MS. 1ª edição. 2011.

Wells JD, Introna F, Jr, Di Vella G, Campobasso CP, Hayes J, Sperling FAH. Human and insect mitochondrial DNA analysis from maggots. J Forensic Sci 2001;46(3):685–687.

J Forensic Sci, May 2009, Vol. 54, No. 3 doi: 10.1111/j.1556-4029.2009.01013.x Available online at: www.blackwell-synergy.com

MUNIZ, Simone dos Santos. SILVA, Paulo Queiroz. Utilização de marcadores moleculares de DNA aplicados nas investigações forenses. UniCEUB. Brasília. simonedf@gmail.com UnB. prqzqueiroz@gmail.com

GREDILHA, Rodrigo *et al.* Entomologia Forense – insetos aliados da lei. Fundação Oswaldo Cruz.

CAINÉ, Laura Sofia Ramos. Entomologia Forense: Identificação genética de espécies em Portugal. Faculdade de medicina da Universidade de Coimbra.

LIMA, Vanessa Daldegan Gomes de. A importância da entomologia e da análise de DNA para identificação forense. PUC de Goiás.

BYARD, R.W.; JAMES, R.A.; GILBERT, J.D. Diagnostic Problems Associated with Cadaveric Trauma from Animal Activity. *Journal of Forensic Medicine and Pathology*, v. 23, n. 3, p.238 –244, 2002.

CAMPOBASSO, C.P; LINVILLE, J.G; WELLS, J.D; INTRONA, F. Forensic genetic analysis of insect gut contents. *Journal of Forensic Medicine and Pathology*, v. 26, n. 2, 2005.

CASKEY, C.T.; EDWARDS, A.O.; DNA typing with short tandem repeat polymorphisms and identification of polymorphic short tandem repeats. United States patent, US n. PI 005364759, 31 jan. 1991, 15 nov. 1994.

CLERY, J.M. Stability of prostate specific antigen (PSA), and subsequent Y-STR typing, of *Lucilia (Phaenicia) sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) maggots reared from a simulated postmortem sexual assault. *Forensic Science International*, v. 120, p. 72-76, 2001.

WATSON, J.D.; CRICK, F.H.C. Molecular structure of nucleic acids. **Nature**, n. 4356, p. 737, 1953

CAMPOBASSO, CARLO P. MD; LINVILLE, Jason G. PhD; WELLS, Jeffrey D. PhD; INTRONA, Francesco. MD. Forensic Genetic analysis of insect gut contents. *The American Journal of Forensic medicine and pathology*. Volume 26, number 2. June 2005, pág. 161-165.

ALAEDDINI, Reza. WALSH Simon. ABBAS, Ali. Molecular studies of time- and environment-dependente effects on bone survival. Forensic genetics Unit, legal medicine organization, Tehran Iran. School of chemical and biomolecular engineering, University of Sydney, Sydney, Australia.

MUNIZ, Simone dos Santos. SILVA, Paulo Queiroz. A utilização de marcadores moleculares de DNA aplicados nas investigações forenses. UnB.

BRUCE, B.; ALLARD, M.W.; WILSON, M.; CHAKRABORTY, E.R. forensics and mitochondrial DNA: Applications, Debates, and Foundations. *Annual eview of Genomics and human genetics*, v.4, p.119-141, set. 2003.

DUARTE, F.A.M. Conselho Nacional de Pesquisa. *Comité sobre A avaliação do DNA como prova forense*. Funpec RP, 2001.

BARBOSA, Marcela Alves. FERREIRA, José Lucena. SANTOS, Elaiza Rodrigues Rocha. SANTOS, Elizangela Cardoso. GOMES, Bruno Severo. Aplicação de fungos em estudos forenses no processo de degradação cadavérica. Saúde e ambiente, Ver, Duque de Caxias, V.7, n1, p.10-18, jan-jun 2012.

CAI, LI X. GUO Y. D, ZHANG, L Feng. CHEN Y. Q. Mitochondrial DNA and STR analyses for human DNA from maggots crops contents: A forensic entomology case from central-southern China. Tropical Biomedicine 28(2) 2011, China.

ALAEDDINI, Reza. WALSH Simon. ABBAS, Ali. Molecular studies of time- and environment-dependente effects on bone survival. Forensic genetics Unit, legal medicine organization, Tehran Iran. School of chemical and biomolecular engineering, University of Sydney, Sydney, Australia.

BARBOSA, Marcela Alves. FERREIRA, José Lucena. SANTOS, Elaiza Rodrigues Rocha. SANTOS, Elizangela Cardoso. GOMES, Bruno Severo. Aplicação de fungos em estudos forenses no processo de degradação cadavérica. Saúde e ambiente, Ver, Duque de Caxias, V.7, n1, p.10-18, jan-jun 2012.

BRUCE, B.; ALLARD, M.W.; WILSON, M.; CHAKRABORTY, E.R. forensics and mitochondrial DNA: Applications, Debates, and Foundations. *Annual eviow of Genomics and human genetics*, v.4, p.119-141, set. 2003.

BYARD, R.W.; JAMES, R.A.; GILBERT, J.D. Diagnostic Problems Associated with Cadaveric Trauma from Animal Activity. *Journal of Forensic Medicine and Pathology*, v. 23, n. 3, p.238 –244, 2002.

BYARD, R.W.; JAMES, R.A.; GILBERT, J.D. Diagnostic Problems Associated with Cadaveric Trauma from Animal Activity. *Journal of Forensic Medicine and Pathology*, v. 23, n. 3, p.238 –244, 2002.

CAINÉ, Laura Sofia Ramos. Entomologia Forense: Identificação genética de espécies em Portugal. Faculdade de medicina da Universidade de Coimbra.

CAMPOBASSO, C.P; LINVILLE, J.G; WELLS, J.D; INTRONA, F. Forensic genetic analysis of insect gut contents. Journal of Forensic Medicine and Pathology, v. 26, n. 2, 2005.

CAMPOBASSO, CARLO P. MD; LINVILLE, Jason G. PhD; WELLS, Jeffrey D. PhD; INTRONA, Francesco. MD. Forensic Genetic analysis of insect gut contents. The American Journal of Forensic medicine and pathology. Volume 26, number 2. June 2005, pág. 161-165.

CASKEY, C.T.; EDWARDS, A.O.; DNA typing with short tandem repeat polymorphisms and identification of polymorphic short tandem repeats. United States patent, US n. PI 005364759, 31 jan. 1991, 15 nov. 1994.

CASKEY, C.T.; EDWARDS, A.O.; DNA typing with short tandem repeat polymorphisms and identification of polymorphic short tandem repeats. United States patent, US n. PI 005364759, 31 jan. 1991, 15 nov. 1994.

CLERY, J.M. Stability of prostate specific antigen (PSA), and subsequent Y-STR typing, of *Lucilia (Phaenicia) sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) maggots reared from a simulated postmortem sexual assault. Forensic Science International, v. 120, p. 72-76, 2001.

DEL-CAMPO, Eduardo Roberto Alcântara. Medicina Legal II. Ed. Saraiva. 2ª edição. 2012.

DUARTE, F.A.M. Conselho Nacional de Pesquisa. *Comité sobre A avaliação do DNA como prova forense*. Funpec RP, 2001.

GREDILHA, Rodrigo *et al*. Entomologia Forense – insetos aliados da lei. Fundação Oswaldo Cruz.

J Forensic Sci, May 2009, Vol. 54, No. 3 doi:
10.1111/j.1556-4029.2009.01013.x Available online at:
www.blackwell-synergy.com

J Forensic Sci, May 2009, Vol. 54, No. 3 doi:
10.1111/j.1556-4029.2009.01013.x Available online at:
www.blackwell-synergy.com

JEFFREYS, A.L.; WILSON, V.; THEIN, S.L. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature*, v. 314, p. 67-73, 1985.

LIMA, Vanessa Daldegan Gomes de. A importância da entomologia e da análise de DNA para identificação forense. PUC de Goiás.

MULLIS, K.; FALOONA, F.; SCHARF, S.; SAIKI, G.; HORN, G.; ERLICH, H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, v. 51, p. 263-273, 1986.

MUNIZ, Simone dos Santos. SILVA, Paulo Queiroz. Utilização de marcadores moleculares de DNA aplicados nas investigações forenses. UniCEUB. Brasília. simonedf@gmail.com UnB. prqzqueiroz@gmail.com

OLIVEIRA-COSTA, J. Insetos peritos: A entomologia forense no Brasil. 1. ed. Campinas: Millennium, 2013. 462p.

OLIVEIRA-COSTA, Janira. Entomologia Forense. Ed. Millenium. 1ª edição. 2003.

PUJOL-LUZ, J.R.; ARANTES, L.C.; CONSTANTINO, R. Cem anos da Entomologia Forense no Brasil (1908-2008). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 52, n. 4, p. 485-492, 2008.

SILVA NETTO, Amílcar da Serra. Manual de atendimento a locais de morte violenta. Ed. Gráfica Oficial do Estado de MS. 1ª edição. 2011.

WATSON, J.D.; CRICK, F.H.C. Molecular structure of nucleic acids. *Nature*, n. 4356, p. 737, 1953

Wells JD, Introna F, Jr, Di Vella G, Campobasso CP, Hayes J, Sperling FAH.
Human and insect mitochondrial DNA analysis from maggots. *J Forensic Sci*
2001;46(3):685–687.