

# Procesamiento e interpretación de imágenes en micro-flujos bacterianos

Carlos M. Pérez Penichet<sup>†</sup>

**Tutor:** Dr. E. Altshuler<sup>†</sup>

**Asesor:** Dr. E. Clément<sup>‡</sup>

<sup>†</sup>Facultad de Física, Universidad de La Habana

<sup>‡</sup>ESCPI, París

Tesis de diploma

C. de la Habana, 2009

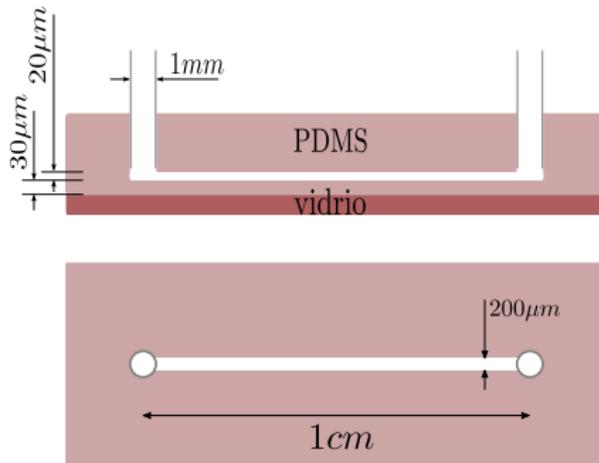
# Contenido

- 1 Sistema experimental
  - Celda Microfluídica
  - Escherichia coli
- 2 Caracterización de la celda microfluídica
  - “Tracking” de micro-esferas
  - Reconstrucción del flujo
- 3 Dinámica de bacterias en la celda
  - Identificación individual de bacterias
  - Procesamiento e interpretación de resultados

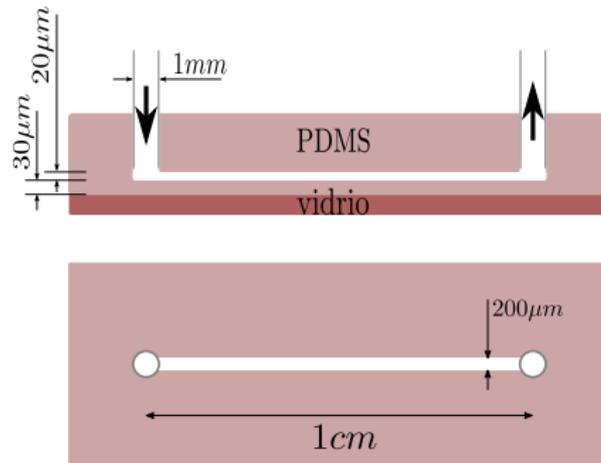
# Celda Microfluídica



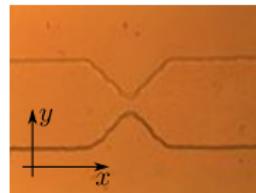
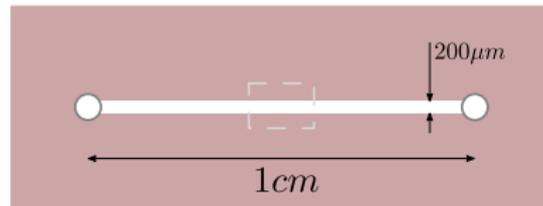
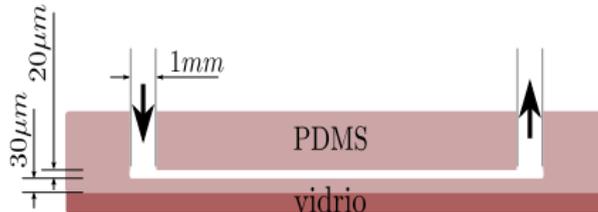
# Celda Microfluídica



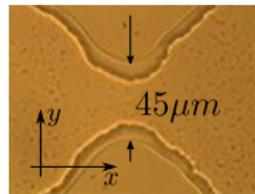
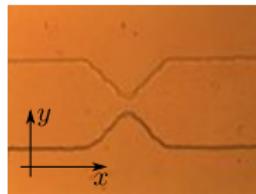
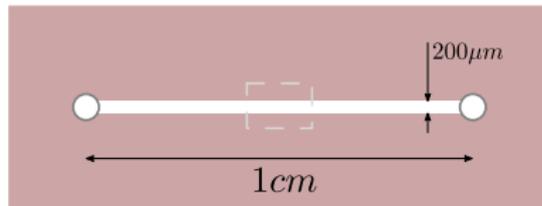
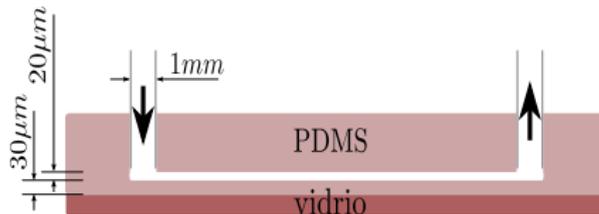
# Celda Microfluídica



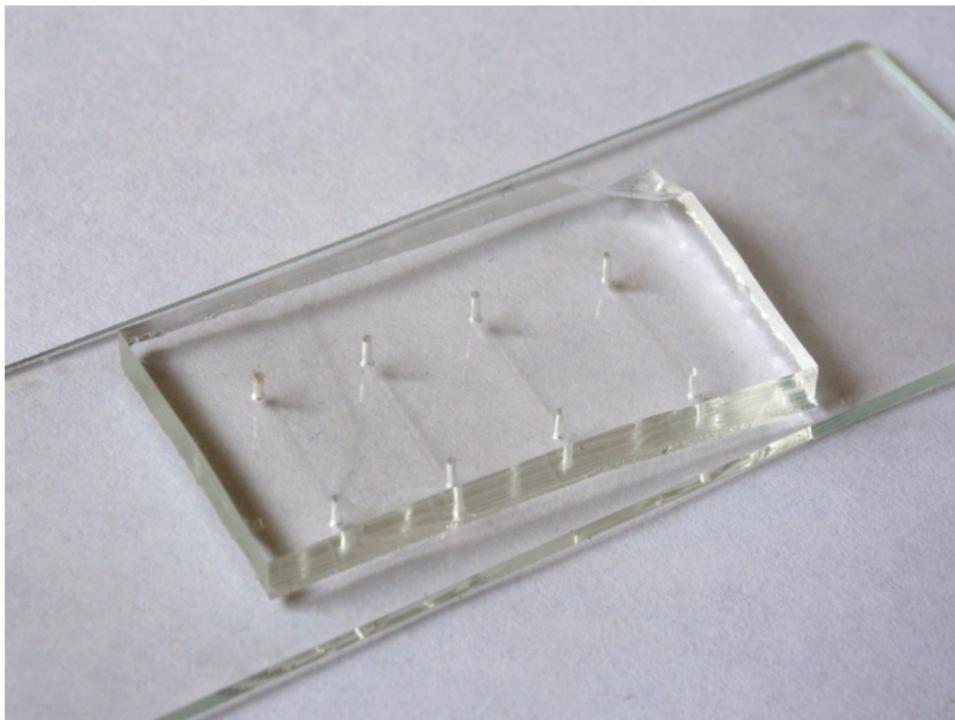
# Celda Microfluídica



# Celda Microfluídica



# Celda Microfluídica









# ImageJ

Software para el procesamiento digital de imágenes



- Enteramente basado en Java
- Extensible mediante *plug-ins*
- Cientos de *plug-ins* disponibles
- Automatizable con macros
- Se encuentra en el dominio público

# ImageJ

Software para el procesamiento digital de imágenes



- Enteramente basado en Java
- Extensible mediante *plug-ins*
- Cientos de *plug-ins* disponibles
- Automatizable con macros
- Se encuentra en el dominio público

# Caracterización de la Celda Microfluídica

# Caracterización de la Celda Microfluídica

## Objetivo

Combinar los resultados del procesamiento de imágenes con las ecuaciones de hidrodinámica para “reconstruir” el flujo en una celda microfluídica real.

# MTrack2

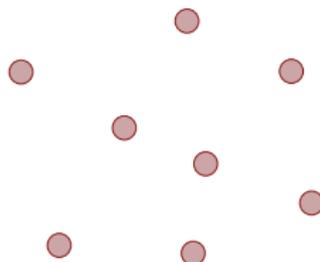
## Algoritmo

- 1 Filtrar y detectar las esferas en cada cuadro
- 2 Analizar desplazamientos menores que un umbral
- 3 Conectar cada trayectoria con el objeto más cercano
- 4 Repetir para todos los cuadros

# MTrack2

## Algoritmo

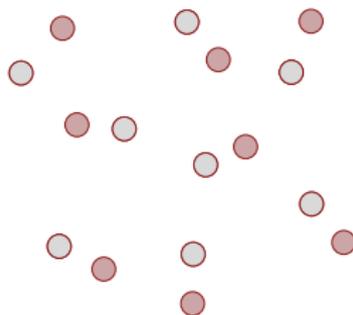
- 1 Filtrar y detectar las esferas en cada cuadro
- 2 Analizar desplazamientos menores que un umbral
- 3 Conectar cada trayectoria con el objeto más cercano
- 4 Repetir para todos los cuadros



# MTrack2

## Algoritmo

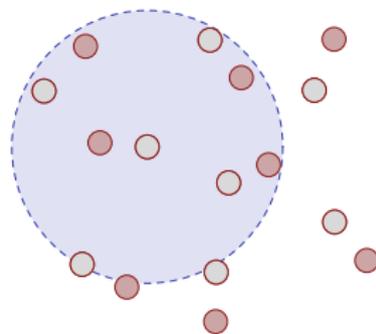
- 1 Filtrar y detectar las esferas en cada cuadro
- 2 Analizar desplazamientos menores que un umbral
- 3 Conectar cada trayectoria con el objeto más cercano
- 4 Repetir para todos los cuadros



# MTrack2

## Algoritmo

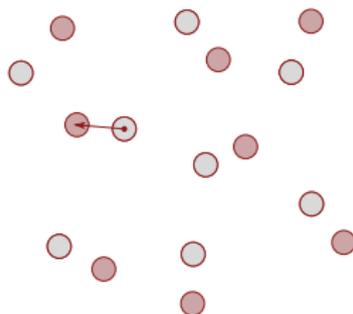
- 1 Filtrar y detectar las esferas en cada cuadro
- 2 Analizar desplazamientos menores que un umbral
- 3 Conectar cada trayectoria con el objeto más cercano
- 4 Repetir para todos los cuadros



# MTrack2

## Algoritmo

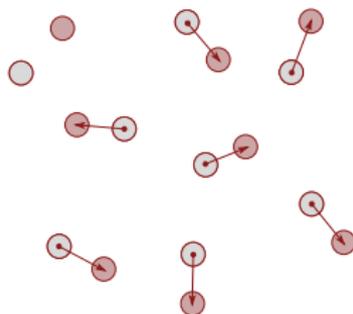
- 1 Filtrar y detectar las esferas en cada cuadro
- 2 Analizar desplazamientos menores que un umbral
- 3 Conectar cada trayectoria con el objeto más cercano
- 4 Repetir para todos los cuadros



# MTrack2

## Algoritmo

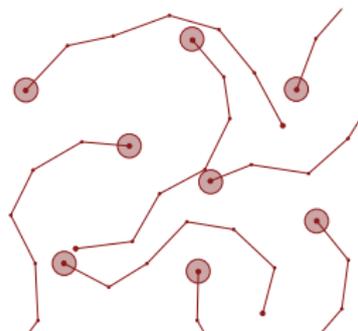
- 1 Filtrar y detectar las esferas en cada cuadro
- 2 Analizar desplazamientos menores que un umbral
- 3 Conectar cada trayectoria con el objeto más cercano
- 4 Repetir para todos los cuadros



# MTrack2

## Algoritmo

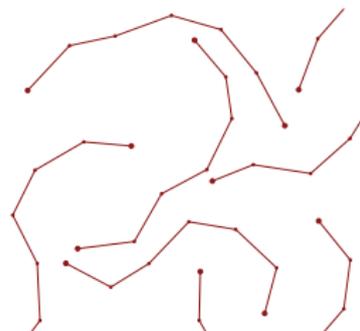
- 1 Filtrar y detectar las esferas en cada cuadro
- 2 Analizar desplazamientos menores que un umbral
- 3 Conectar cada trayectoria con el objeto más cercano
- 4 Repetir para todos los cuadros



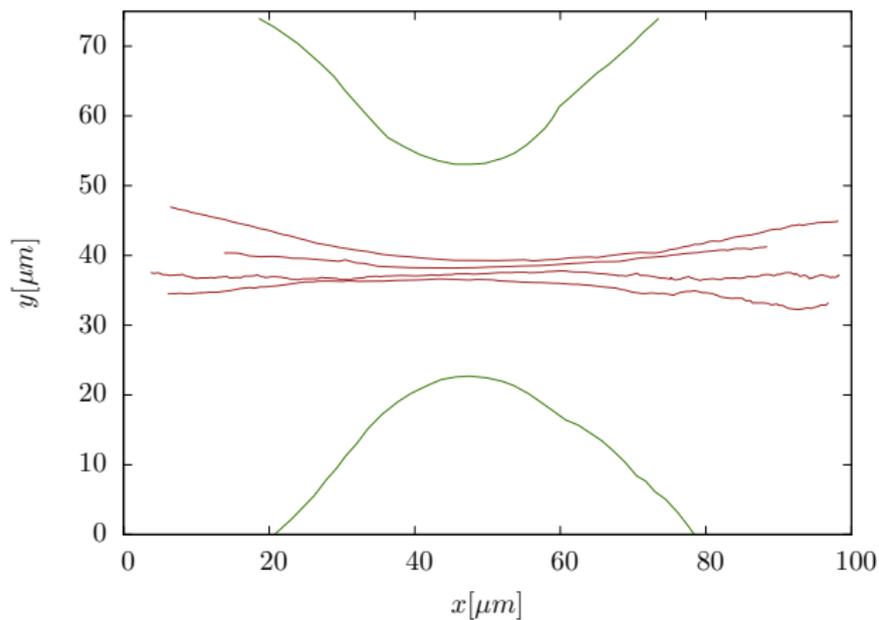
# MTrack2

## Algoritmo

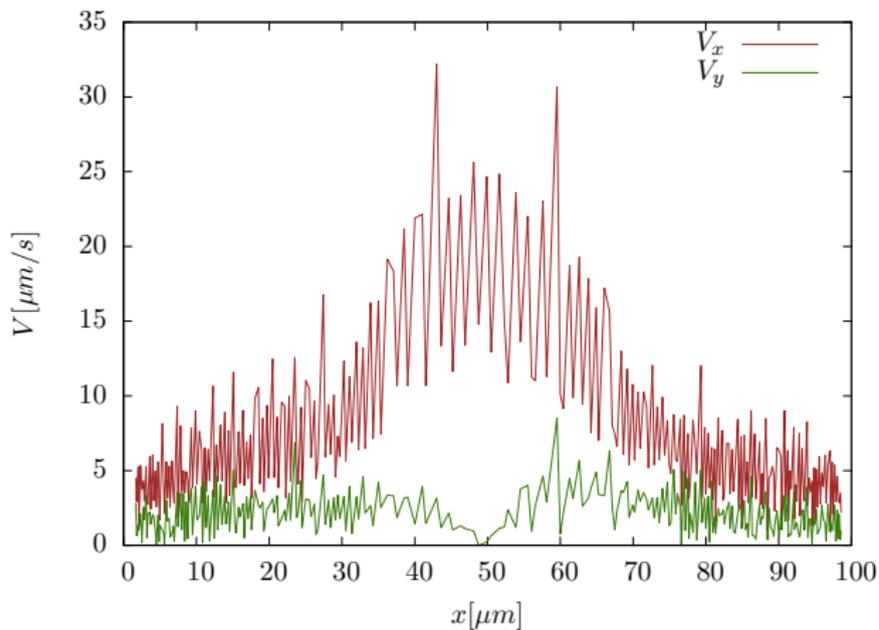
- 1 Filtrar y detectar las esferas en cada cuadro
- 2 Analizar desplazamientos menores que un umbral
- 3 Conectar cada trayectoria con el objeto más cercano
- 4 Repetir para todos los cuadros



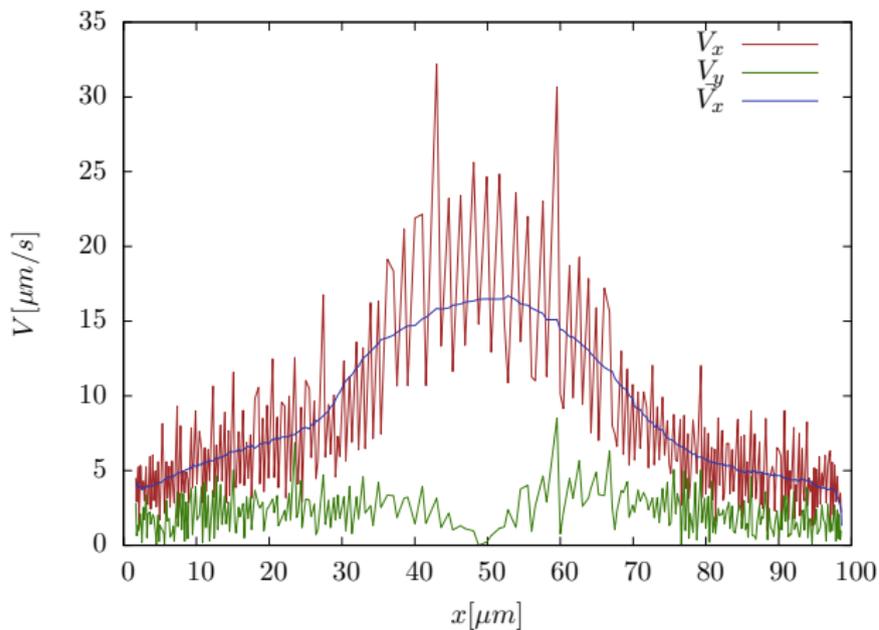
# Ejemplos de Trayectorias



# Velocidad de los Trazadores



# Velocidad de los Trazadores



# Reconstrucción del Flujo

Condiciones de frontera para las ecuaciones de Navier-Stokes

$$\begin{aligned}\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla \vec{v} &= \nabla p + \nu \nabla^2 \vec{v} \\ \nabla \cdot \vec{v} &= 0\end{aligned}$$

- Condición de no deslizamiento
- Salida libre del fluido
- Perfil de velocidad parabólico en la entrada obtenido de los experimentos
- Malla para solución numérica

$$\rho \approx 1,08 \text{g/cm}^3$$

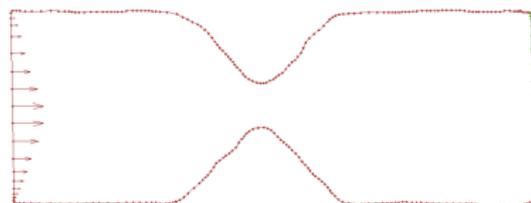
$$\nu \approx 1,5 \times 10^{-3} \text{m}^2/\text{s}$$

# Reconstrucción del Flujo

Condiciones de frontera para las ecuaciones de Navier-Stokes

$$\begin{aligned}\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla \vec{v} &= \nabla p + \nu \nabla^2 \vec{v} \\ \nabla \cdot \vec{v} &= 0\end{aligned}$$

- Condición de no deslizamiento
- Salida libre del fluido
- Perfil de velocidad parabólico en la entrada obtenido de los experimentos
- Malla para solución numérica

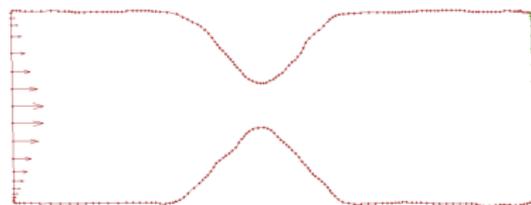


# Reconstrucción del Flujo

Condiciones de frontera para las ecuaciones de Navier-Stokes

$$\begin{aligned}\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla \vec{v} &= \nabla p + \nu \nabla^2 \vec{v} \\ \nabla \cdot \vec{v} &= 0\end{aligned}$$

- Condición de no deslizamiento
- Salida libre del fluido
- Perfil de velocidad parabólico en la entrada obtenido de los experimentos
- Malla para solución numérica

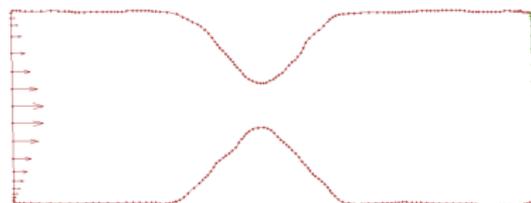


# Reconstrucción del Flujo

Condiciones de frontera para las ecuaciones de Navier-Stokes

$$\begin{aligned}\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla \vec{v} &= \nabla p + \nu \nabla^2 \vec{v} \\ \nabla \cdot \vec{v} &= 0\end{aligned}$$

- Condición de no deslizamiento
- Salida libre del fluido
- Perfil de velocidad parabólico en la entrada obtenido de los experimentos
- Malla para solución numérica

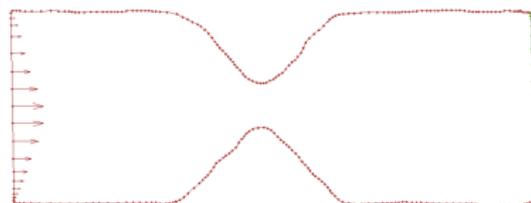


# Reconstrucción del Flujo

Condiciones de frontera para las ecuaciones de Navier-Stokes

$$\begin{aligned}\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla \vec{v} &= \nabla p + \nu \nabla^2 \vec{v} \\ \nabla \cdot \vec{v} &= 0\end{aligned}$$

- Condición de no deslizamiento
- Salida libre del fluido
- Perfil de velocidad parabólico en la entrada  
obtenido de los experimentos
- Malla para solución numérica

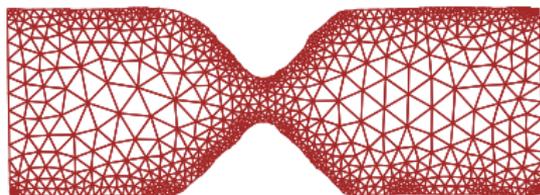
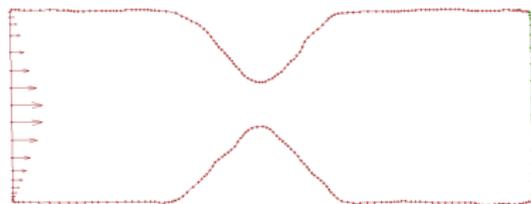


# Reconstrucción del Flujo

Condiciones de frontera para las ecuaciones de Navier-Stokes

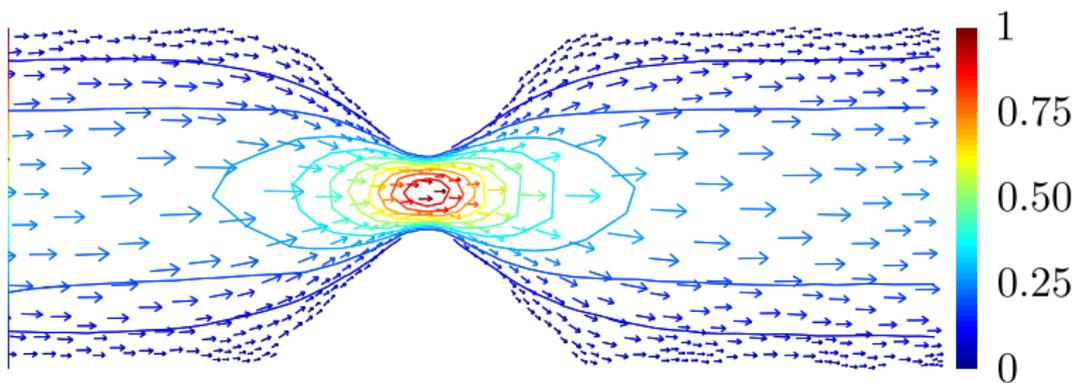
$$\begin{aligned}\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla \vec{v} &= \nabla p + \nu \nabla^2 \vec{v} \\ \nabla \cdot \vec{v} &= 0\end{aligned}$$

- Condición de no deslizamiento
- Salida libre del fluido
- Perfil de velocidad parabólico en la entrada  
obtenido de los experimentos
- Malla para solución numérica



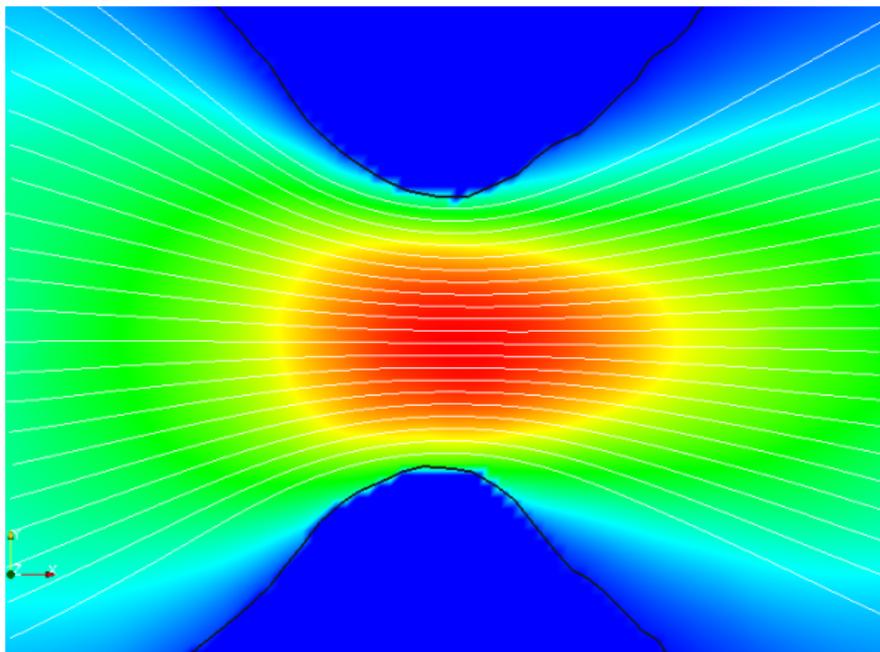
# Reconstrucción del Flujo

Solución numérica de las ecuaciones de Navier-Stokes



# Reconstrucción del Flujo

Solución numérica de las ecuaciones de Navier-Stokes



# Dinámica de Bacterias en la Celda

# Dinámica de Bacterias en la Celda

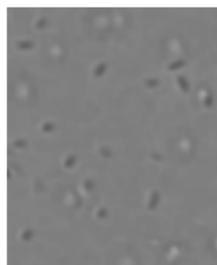
## Objetivo

Caracterizar un nuevo fenómeno en micro-flujos bacterianos combinando nuevos resultados obtenidos mediante procesamiento de imágenes con la caracterización de la celda.

# Identificación Individual de Bacterias

## Algoritmo

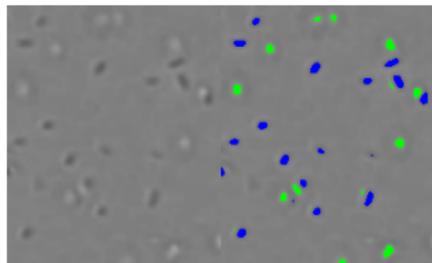
- 1 Homogeneizar y “ecualizar” campo
- 2 Filtrar con doble umbral
- 3 Filtrar puntos por tamaño
- 4 Contar puntos resultantes en cada cuadro



# Identificación Individual de Bacterias

## Algoritmo

- 1 Homogeneizar y “ecualizar” campo
- 2 Filtrar con doble umbral
- 3 Filtrar puntos por tamaño
- 4 Contar puntos resultantes en cada cuadro

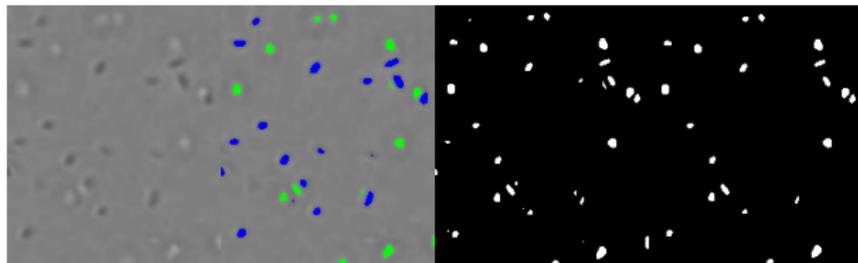




# Identificación Individual de Bacterias

## Algoritmo

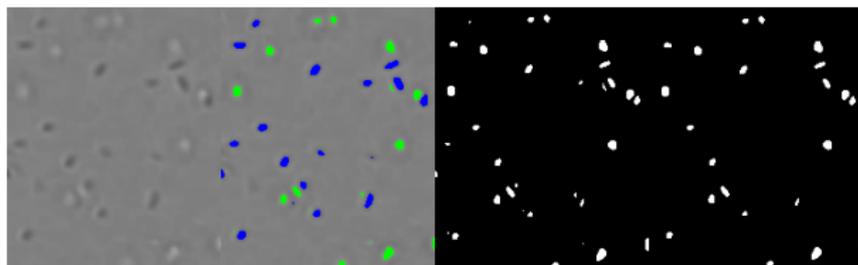
- 1 Homogeneizar y “ecualizar” campo
- 2 Filtrar con doble umbral
- 3 Filtrar puntos por tamaño
- 4 Contar puntos resultantes en cada cuadro



# Identificación Individual de Bacterias

## Algoritmo

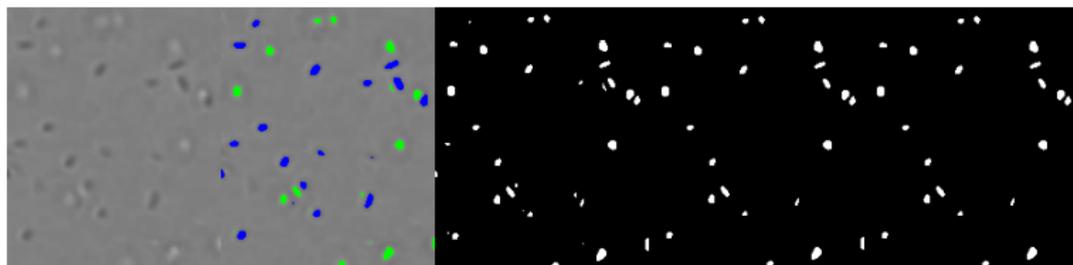
- 1 Homogeneizar y “ecualizar” campo
- 2 Filtrar con doble umbral
- 3 Filtrar puntos por tamaño
- 4 Contar puntos resultantes en cada cuadro



# Identificación Individual de Bacterias

## Algoritmo

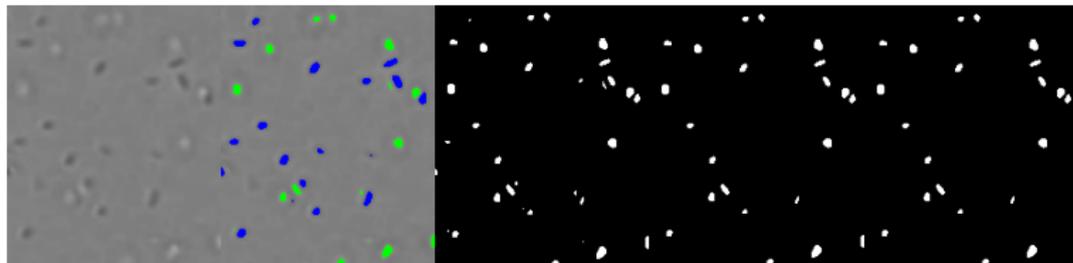
- 1 Homogeneizar y “ecualizar” campo
- 2 Filtrar con doble umbral
- 3 Filtrar puntos por tamaño
- 4 Contar puntos resultantes en cada cuadro



# Identificación Individual de Bacterias

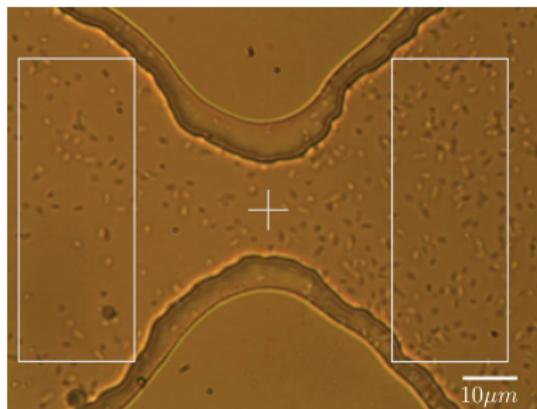
## Algoritmo

- 1 Homogeneizar y “ecualizar” campo
- 2 Filtrar con doble umbral
- 3 Filtrar puntos por tamaño
- 4 Contar puntos resultantes en cada cuadro



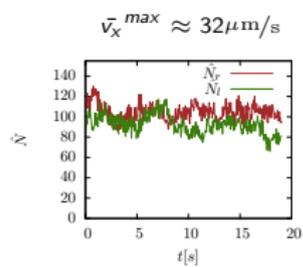


# Procesamiento e Interpretación de Resultados

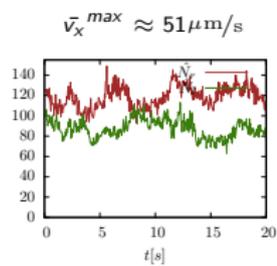
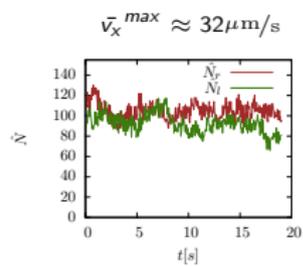


# Resultados

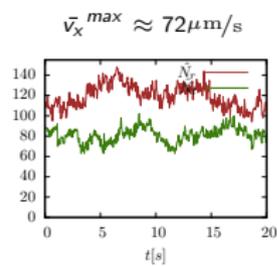
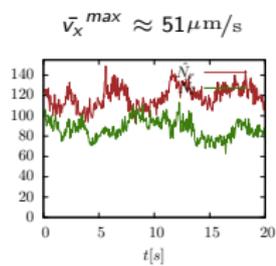
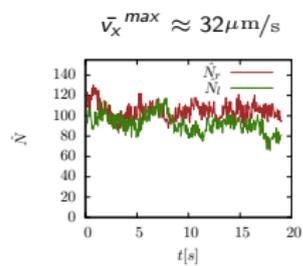
# Resultados



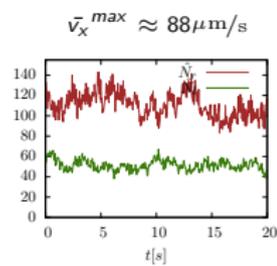
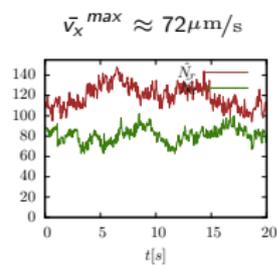
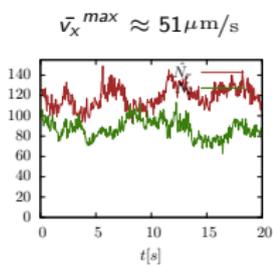
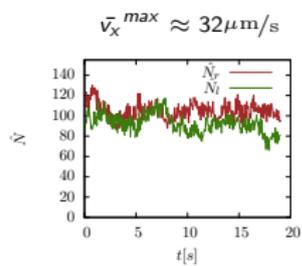
# Resultados



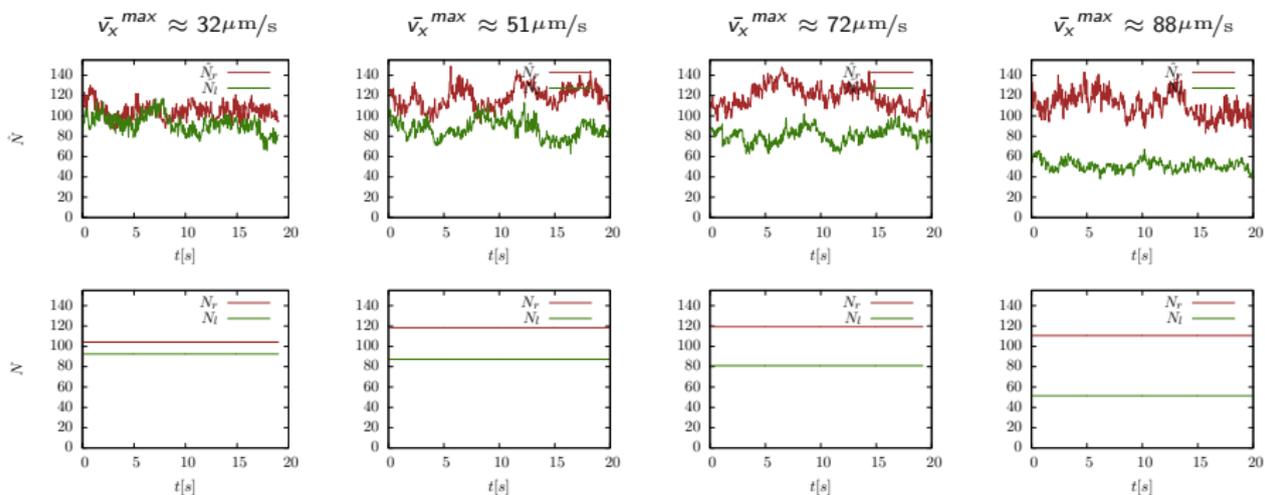
# Resultados



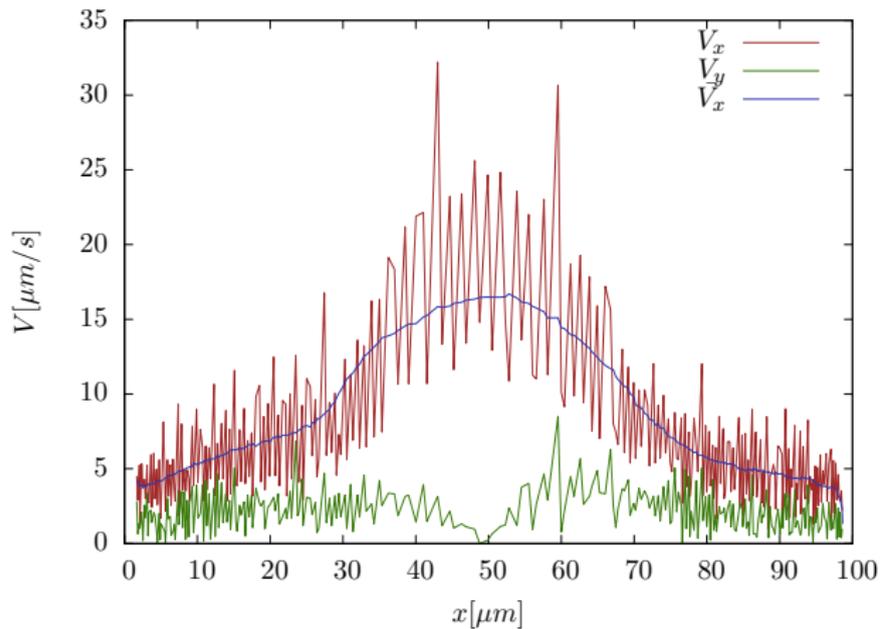
# Resultados



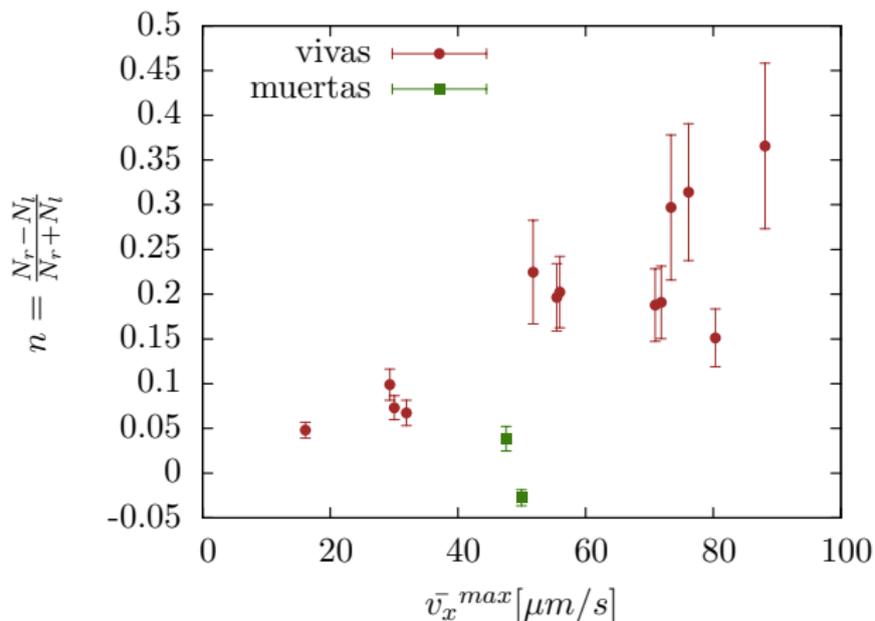
# Resultados



# Resultados



# Resultados



# Conclusiones

- Se ha “reconstruido” el campo de velocidades de una celda microfluídica real, combinando la solución numérica de las ecuaciones de la hidrodinámica con datos obtenidos del procesamiento digital de imágenes.
- Mediante el PDI, se ha comprobado cuantitativamente el fenómeno de ruptura de simetría en flujos de *E. coli* dentro de una celda microfluídica.
- Importante:
  - Necesidad de nuevos experimentos.
  - Modelo teórico.

# Conclusiones

- Se ha “reconstruido” el campo de velocidades de una celda microfluídica real, combinando la solución numérica de las ecuaciones de la hidrodinámica con datos obtenidos del procesamiento digital de imágenes.
- Mediante el PDI, se ha comprobado cuantitativamente el fenómeno de ruptura de simetría en flujos de *E. coli* dentro de una celda microfluídica.
- Importante:
  - Necesidad de nuevos experimentos.
  - Modelo teórico.

# Conclusiones

- Se ha “reconstruido” el campo de velocidades de una celda microfluídica real, combinando la solución numérica de las ecuaciones de la hidrodinámica con datos obtenidos del procesamiento digital de imágenes.
- Mediante el PDI, se ha comprobado cuantitativamente el fenómeno de ruptura de simetría en flujos de *E. coli* dentro de una celda microfluídica.
- Importante:
  - Necesidad de nuevos experimentos.
  - Modelo teórico.

# Conclusiones

- Se ha “reconstruido” el campo de velocidades de una celda microfluídica real, combinando la solución numérica de las ecuaciones de la hidrodinámica con datos obtenidos del procesamiento digital de imágenes.
- Mediante el PDI, se ha comprobado cuantitativamente el fenómeno de ruptura de simetría en flujos de *E. coli* dentro de una celda microfluídica.
- Importante:
  - Necesidad de nuevos experimentos.
  - Modelo teórico.

# Conclusiones

- Se ha “reconstruido” el campo de velocidades de una celda microfluídica real, combinando la solución numérica de las ecuaciones de la hidrodinámica con datos obtenidos del procesamiento digital de imágenes.
- Mediante el PDI, se ha comprobado cuantitativamente el fenómeno de ruptura de simetría en flujos de *E. coli* dentro de una celda microfluídica.
- Importante:
  - Necesidad de nuevos experimentos.
  - Modelo teórico.

# Conclusiones

- Se ha “reconstruido” el campo de velocidades de una celda microfluídica real, combinando la solución numérica de las ecuaciones de la hidrodinámica con datos obtenidos del procesamiento digital de imágenes.
- Mediante el PDI, se ha comprobado cuantitativamente el fenómeno de ruptura de simetría en flujos de *E. coli* dentro de una celda microfluídica.
- Importante:
  - Necesidad de nuevos experimentos.
  - Modelo teórico.